

Zur Toxizität
der Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA)

von
Karl-Georg Kaiser
aus
Bischofsgrün

1980



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546209_0030

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. Dr. H. B. Wuermeling

Zur Toxizität der Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA)

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von

Karl-Georg Kaiser
aus
Bischofsgrün

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. W. Kersten
Referent: Prof. Dr. M. Geldmacher-v.Mallinckrodt
Korreferent: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling
Tag der mündlichen Prüfung: 25.11.1980

DISPOSITION

I. Einleitung

- a) Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA) - ein wirksames Antidot
- b) Strukturanalyse und Begriffsbestimmung von EDTA
- c) übliche Handelspräparate der EDTA
- d) Begriffs- und Strukturbestimmung von DTPA
- e) Wirkungsweise von EDTA und DTPA
- f) Beispiele für die Toxizität von EDTA an Hand der medizinischen Literatur

II. Metabolismus und Exkretion

- a) Aufgabengebiet und Ziel der Arbeit
- b) Resorption, Verteilung und Elimination der Chelate
- c) Art und Ausmaß des metabolischen Abbaus
- d) Lokalisation und Bedeutung des metabolischen Abbaus
- e) Modus der renalen Ausscheidung
- f) Beeinflussbarkeit der Exkretion durch:
 - 1.: Säuren und Basen
 - 2.: tubuläre Blocker mit eigenständigem Sekretionsmechanismus

III. Symptomatik der Chelatintoxikation: Klinisches und histopathologisches Erscheinungsbild

- a) Klinische und histologische Analyse eines Falles von tödlich verlaufener Mosatilintoxikation
- b) Ergebnisse von Toxizitätsuntersuchungen an verschiedenen Rattenstämmen
- c) Die Chelat- und Dosisabhängigkeit von Nierenalterationen
- d) Die Nierenalterationen in Abhängigkeit von Art des Chelates und des jeweiligen Nierenabschnittes
- e) Der zeitliche Verlauf der Nierenalterationen
- f) Die Relevanz struktureller Befunde

IV. Biochemische Aspekte der Chelattoxizität

- a) "Der vakuoläre Apparat" - das Bindeglied zwischen histopathologischen und biochemischen Veränderungen
- b) Die Dosis und Zeitspezifität des "vakuolären Apparates"
- c) Der Einfluß von EDTA auf verschiedene Enzymsysteme des Menschen
- d) Der Einfluß verschiedener Metallchelate auf ein vorgegebenes Enzymsystem
- e) Klinische und biochemische Veränderungen der Niere und der Leber nach Gaben von CuCa-EDTA
- f) Die Rolle der Spurenelemente bei der Chelateinwirkung auf Metallenzyme

V. Die Bedeutung der Spurenelemente bei der Chelattoxizität

- a) Der Einfluß der Chelate auf den Eisenhaushalt
- b) Der Einfluß der Chelate auf den Zinkhaushalt
- c) Das Verhalten von Mangan bei Einwirkung verschiedener Chelate

VI. Indikationsstellung und therapeutische Breite der Chelate

- a) Die Indikationsstellung der Chelate
- b) Die Durchführung des Bleiprovokationstestes
- c) Höchstdosis und therapeutische Breite beim Bleiprovokationstest

VII. Diskussion

VIII. Zusammenfassung (summary)

IX. Literaturverzeichnis

I E I N L E I T U N G

a) Über die Bedeutung und Effizienz der Gabe von Äthylendiamin-tetraessigsäure bei Schwermetallvergiftungen sind im Verlauf der letzten zwei Jahrzehnte zahlreiche Arbeiten veröffentlicht worden, und Äthylendiamintetraessigsäure - und hier im speziellen die Calciumsalze dieser Polyaminopolycarbonsäure - sind heute als wirksames Antidot allgemein anerkannt.

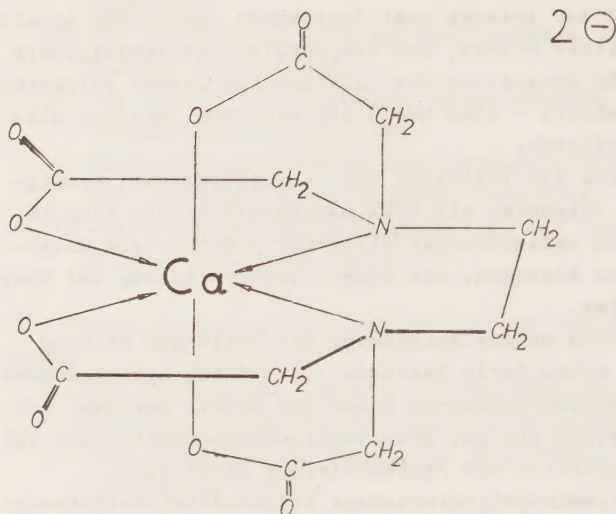
Hinsichtlich der Toxizität von Äthylendiamintetraessigsäure (im folgendem als EDTA abgekürzt) finden sich in der neueren medizinischen Literatur jedoch viele unterschiedliche Aussagen, die einer Zusammenfassung und Klärung bedürfen.

Das Interesse an der Aufklärung der toxischen Wirkung liegt vor allem darin begründet, daß diese synthetischen Polyaminopolycarbonsäuren heute das Mittel der Wahl bei der Behandlung einiger Metallspeicherkrankheiten und bei der Incorporation von Radionucleiden darstellen.

b) Die Polyaminopolycarbonsäure Äthylendiamintetraessigsäure bildet in wässriger Lösung mit Metallionen rasch Salze. Diese Salze gehören zur Gruppe der Chelate, stellen also Verbindungen der Komplexchemie dar. Der Ausdruck "Chelat" ist vom griechischen Wort $\chi\eta\lambda\eta$ (Krebsschere) abgeleitet und soll die Umklammerung eines Metallions durch eine organische Verbindung verdeutlichen. Voraussetzung für die Bildung eines Chelates sind Moleküle, die mehrere freie Elektronenpaare besitzen, die räumlich weit genug getrennt sind, und so als Ligand mit einem Zentralatom mehrere Bindungen gleichzeitig eingehen können, wie dies z.B. bei Äthylendiamin ($\text{H}_2\text{N} - (\text{CH}_2)_2 - \text{NH}_2$) der Fall ist.

Auf Grund ihrer hohen Stabilität finden die Chelate in der analytischen Chemie (Fällung und quantitative Bestimmung) und in der Medizin (Behandlung von Hyperkalzämien, Ausschwemmung von Schwermetallen) Verwendung. Von medizinischen Interesse sind dabei vor allem die Calcium-

und Natriumsalze der EDTA. Die Strukturformel für Calciumäthylendiamintetraessigsäure lautet:



c) Calcium-EDTA wurde 1953 nach erfolgreich abgeschlossenen Tierversuchen unter dem Firmennamen "Mosatil" von Bayer-Leverkusen in die Therapie eingeführt. Mosatil ist das Monocalciumdinatriumsalz der EDTA. Die rationelle Bezeichnung nach der Nomenklatur des Beilstein (1964) lautet: "Dinatrium, Calcium-aethylendiamin-tetraacetat". Die rationelle Bezeichnung nach der Nomenklatur des "Chemical Abstracts" ist: Disodium-calcium-ethylendiamintetraacetate". Als Bezeichnung in der Pharmakopea Internationalis, der British Pharmakopeia und der Pharmakopeia of United States ist angegeben: "Calcium-Disodium-Edetate" ($C_{10}H_{12}CaN_2O_8$)- Na_2

Nach dem Index Pharmacorum, Hrsg. Ippen (1968) sind heute neben Mosatil noch folgende Präparate auf dem Markt, die

Calcium-EDTA enthalten und auf dessen Wirkungsweise beruhen: (Angabe der Markennamen und des Herstellers, bzw. des Herstellerlandes)

"Antallin", "Calcisan-Ampullen", "Ca-AC" (Allgemeine Chemie Linz)

"Ca-Disodium Versenate" (Riker)

"Ca-Hausmann", "Ca-Montavit", "Ca-Noury", "Ca-Titriplex" (Merck)

"Ca-Vitis" (Vitis-GmbH)

"Ca-Weiss", "Chelaton 3" (CSR)

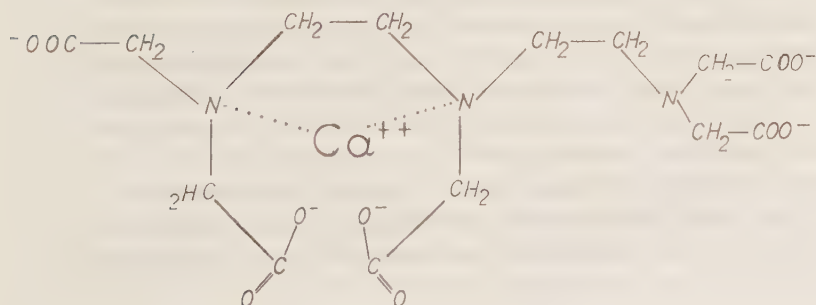
"Chelaton-EDTA", "Edtocal" (SPOFA)

"Eucalcium", "Mosatil" (Bayer)

"Prophyletta" (DDR)

"Sormetal" (La-Roche-Navarron)

d) Medizinisch bedeutsam ist neben dem Calciumsalz der EDTA auch das Calciumsalz der Diäthylentriaminpentaessigsäure (im folgendem abgekürzt als DTPA). DTPA ist in seinen Eigenschaften und strukturell eng mit EDTA verwandt. Seine rationelle Bezeichnung nach der Nomenklatur des Beilstein (1964) lautet: "Calcium-trinatrium-3-aza-pentamethyldiamin-N.N.N.N.N`-pentaacetat". Auf dem Markt ist es unter der Bezeichnung "Ca-Chel" (Geigy). Als Strukturformel wird angegeben:



e) Die Wirkungsweise von EDTA und DTPA als Antidote beruht auf dem unspezifischen Austausch eines schwächer gebundenen Metalls gegen ein stärker gebundenes Metall, analog einem Ionenaustauscher. Die Bindungsfähigkeit der Metalle ergibt sich dabei aus der sogenannten Komplexbildungskonstante der Polyaminopolycarbonsäure mit dem entsprechenden Metallionen.

Für die einzelnen Metalle stellten Wirth und Mitarbeiter (1971) folgende log-K Werte zusammen:

Na = 1,7; Li = 2,8; Ba = 7,8; Mg = 8,7;

Ca = 10,6; Mn = 13,4; Fe²⁺ 14,2; Co = 16,1;

Zn = 16,3; Cd = 16,5; Pb = 18,2; Cu = 18,3;

Ni = 19,0; Th = 23,0; Cr = 24,0; Fe³⁺ 25,0;

Elemente mit hohen log-K setzen solche mit niedrigerem aus dem Komplex in Freiheit, sodaß die Reaktionsgleichung für Mosatil im Fall des Bleies lautet:



f) Die dabei entstehenden Schwermetallchelate hielt man lange Zeit für biologisch inaktiv, da Untersuchungen ergaben, daß eine Ionisierung des Metalls nur in geringem Umfang stattfindet. 1954 wurde daher das Bleichelat der EDTA sogar als Röntgenkontrastmittel empfohlen (Chenoweth, M. B., 1956). Mittlerweile sind jedoch starke und berechtigte Zweifel an der Ungefährlichkeit der Chelate aufgekommen. Auf ernste toxische Nebenwirkungen von Mosatil (im Zusammenhang mit der Behandlung einer Bleivergiftung) machten erstmals 1955 Dudley et al. (1955) und Holland und Mitarbeiter (1955) aufmerksam. Sie berichten über mehrere Fälle, bei denen es bei der Einnahme von Mosatil zu Übelkeit, Erbrechen und Myalgien gekommen war. Inzwischen sind (mindestens) vier Todesfälle in der med. Literatur nach der Behandlung von Bleivergiftungen durch Calciumversenat beschrieben:

Fall 1: Vogt und Cottier (1957) beobachteten das Auftreten einer nekrotisierenden Nephrose bei der Behandlung eines 38-jährigen Mannes, der an einer chronischen Blei-

vergiftung mit akutem Schub litt. Irrtümlicherweise wurde das Calciumversenat zehnfach zu hoch dosiert (über fünf Tage 600mg/kg und Tag). Am fünften Behandlungstag entstand eine therapeutisch nicht beeinflussbare tödliche Urämie. Fall 2 und 3: Auch bei den beiden von Moeschlin (1957) und Moeschlin und Schlechtermann (1952) berichteten Fällen war die Todesursache eine Urämie. Das Chelat war hier aber in der üblichen Dosierung (2-4g/Tag) verabreicht worden. Indem einen Fall handelte es sich um einen 60-jährigen Arbeiter einer Bleiweißfabrik mit den typischen Symptomen einer akuten Bleiintoxikation (Serumbleiwert 160 g/100ml). Bei der Behandlung mit Calciumversenatinfusionen (2x2g/tag, 4Tage lang) traten jedesmal eigenartige zentralnervöse Störungen (Verwirrtheit, Übelkeit, Kopfschmerzen) auf, die stets bis zum nächsten Tag abklangen. Nach mehrwöchiger Pause wurde deshalb einen Monat lang Mosatil nur per os gegeben (3x0,7g/Tag). Vor der Klinikentlassung wollte man mit einer nochmaligen intravenösen Calciumversenatkur (5g täglich) möglichst alles Blei ausschwemmen. Wiederum traten schwere zentralnervöse Störungen auf und nunmehr entwickelte sich die rasch tödliche Urämie. In dem zweiten von Moeschlin (1952) beschriebenen Fall gab bei einem 53-jährigen Maler eine chronische Bleiintoxikation mit akutem Schub Veranlassung zu der Behandlung mit Calcium-Chelaten. Auch hier wurde nach der Infusion von 2g Mosatil ein Verwirrungszustand beobachtet, der sich erst am nächsten Tag besserte. Nach zwei weiteren Infusionen von je 4g Mosatil am zweiten Behandlungstag und noch 2g Mosatil am nächsten Tag kam es zu kompletter Anurie und Urämie, die am vierten Tag nach Krankenhausaufnahme den Tod herbeiführte.

4. Fall: Weinig und Schwerd (1958) berichten über den Todesfall eines Drahtziehers, bei dem es auf Grund seiner Tätigkeit zu einer chronischen Bleivergiftung mit akutem Schub gekommen war. Während der Behandlung mit Mosatil (300 ml/Tag über 5Tage) litt der Patient unter Gliederschmerzen und Fieberanfällen. Als Todesursache wurde eine durch Medikamente hervorgerufene Allgemeinschädigung an-

genommen. Eine anschließende gerichtliche Sektion offenbarte eine Tubularnekrose der Niere, die mit hoher Wahrscheinlichkeit durch die Verabfolgung von Calcium- Na_2 -EDTA entstanden war. Nach Ansicht der beiden Autoren erfolgte dabei die Schädigung des Tubuluepithels über eine durch das vermehrt angehäuften Blei ausgelöste spastische Gefäßkontraktionen mit sekundär bedingter Ischämie.

Als einleitendes Moment der Tubularnekrose sehen sie eine Vorschädigung der Niere (in diesem Fall eine leichte Arteriosklerose) an. Der Tod trat dann am elften Behandlungstag infolge einer Urämie ein.

Die grundsätzliche Bedeutung diese Todesfälle für die Verabfolgung der Chelate einerseits, sowie die weite Verbreitung der EDTA-Präparate andererseits, machen eine genaue Analyse der Toxizität von EDTA notwendig.

II METABOLISMUS UND EXKRETION

a) Im Verlauf der letzten 20 Jahre wurden im zunehmenden Maße Untersuchungen über die Verwendung von Chelatbildnern zur Mobilisierung von Radionukleiden oder stabilen toxischen Metallen aus der Säugetierorganismus durchgeführt. Als wirksam erwiesen sich verschiedene synthetische Polyaminopolycarboxylsäuren, wobei die Äthylendiamintetraessigsäure das Mittel der Wahl für die Dekorporation für eine Reihe von Metallionen darstellt.

Catsch (1964) stellte 1964 zum erstenmal eine zusammenfassende Übersicht über das Wirkungsspektrum der Chelatbildner auf (siehe Teil VI, Abschnitt a). Um jedoch auf breiter Basis therapeutische Anwendung finden zu können, ist eine gründlich Kenntnis des metabolischen Verhaltens und der Toxizität dieser Chelatbildner eine unerläßliche Voraussetzung.

Ziel dieser Arbeit soll es sein, den Stand der Entwicklung auf diesem Gebiet an Hand der medizinischen Literatur der vergangenen 20 Jahre darzustellen, die Aussagen und Arbeiten zusammenzufassen und auf mögliche Gefahren bei der Behandlung mit EDTA hinzuweisen.

Unabdingbar für eine genaue Analyse der Toxizität therapeutischer Chelatbildner ist dabei das Wissen über Metabolismus und Exkretion dieser Substanzen. Dabei sind folgende Fragen von Interesse:

- 1.: In welchem Maße unterliegt EDTA einem Abbau und welche Gruppen des Chelates betrifft er?
- 2.: Wo findet dieser Abbau statt und wie läßt er sich beeinflussen?
- 3.: Liegt der Exkretion der Metabolite ein aktiver Vorgang zu Grunde, und wenn ja, wie läßt sich dieser Vorgang beeinflussen?

b) Chelatbildner werden nach Kuschinsky (1975) bei parenteraler Applikation gut, aus dem Gastrointestinaltrakt jedoch nur verhältnismäßig wenig (etwa zu 5%) resorbiert.

Die Bestimmung des sogenannten Verdünnungsvolumens durch Hoene (1967) und Bohne et al. (1968) ergab dabei eine auf den extrazellulären Raum beschränkte Verteilung der Chelate.

Bereits 1953 konnten Foreman und seine Mitarbeiter zeigen, daß die Elimination der Chelate vorwiegend durch Ausscheidung über die Nieren stattfindet. Foreman et al. (1960) und Havlicek et al. (1968) fanden, daß C^{14} markiertes Ca-Chelat der EDTA nach parenteraler Verabfolgung bei Ratten und Menschen schon nach 4 Stunden zu annähernd 95% mit dem Urin ausgeschieden wird. Eine Dosisabhängigkeit der Ausscheidung liegt nicht vor. Beide Autoren fanden in Übereinstimmung daneben eine äußerst geringe fäkale Ausscheidung von 0,5%.

Die Ausscheidungsdaten der Versuche Havliceks sind in Tabelle 1 wiedergegeben. Sie zeigt die C^{14} Ausscheidung (% der C^{14} Dosis) nach Injektion markierter Chelate (C^{14} - 1 - Acetat) bei Ratten des Heiligenberg-Inzuchtstammes. Mittelwerte mit Mutungsbereichen ($P = 0,05$); n = Zahl der Tiere.

c) Während Foreman (1960) jedoch bei seinen Versuchen weniger als 0,1% der Aktivität des markierten Ca-EDTA-Chelates im ausgeatmeten CO_2 nachweisen konnte, ermittelten Havlicek und Bohne (1968) einen 7-13fach höheren Wert. Im Gegensatz zu Foreman, der die Chelate nur in der C-2-Acetatstellung markiert hatte, erstreckten sich die Versuche von Havlicek und Mitarbeiter auf die Veratmung von in verschiedenen Positionen markiertem Ca-EDTA. daneben untersuchten Havlicek et al. die Veratmung der in der C-1-Acetat-Stellung markierten Yttrium-III-EDTA sowie Ca- und Zn-DTPA. Ihre Ergebnisse sind in Tabelle 2 und Tabelle 3 wiedergegeben.

Tabelle 2 zeigt den Gehalt an $^{14}CO_2$ nach 24 Stunden in der Atemluft von Ratten des Heiligenberg-Inzuchtstammes (Gewicht 210g) nach Injektion von jeweils 100 mol Ca-EDTA, das in verschiedenen Positionen markiert wurde. n = Anzahl der untersuchten Tiere; Tabelle mit Mutungsbereichen, $P = 0,05$.

Chelat	Dosis (μ mol)	Urin			Faeces	
		0 - 4 Stunden	4 - 24 Stunden	0 - 4 Stunden	0 - 24 Stunden	
Ca-EDTA	100	---	---	94,90 $\pm$ 6,11	0,267 $\pm$ 0,172	
Ca-DTPA	1	66,41 $\pm$ 21,40	29,00 $\pm$ 24,15	95,41 $\pm$ 4,42	0,223 $\pm$ 0,123	
	100	82,59 $\pm$ 4,65	8,68 $\pm$ 5,71	91,11 $\pm$ 2,47	0,581 $\pm$ 0,103	
Zn-DTPA	1	66,91 $\pm$ 28,45	24,21 $\pm$ 23,99	91,13 $\pm$ 5,80	0,359 $\pm$ 0,164	
	100	83,71 $\pm$ 4,03	6,03 $\pm$ 3,55	89,75 $\pm$ 4,08	0,551 $\pm$ 0,139	

Tabelle 1 nach F. Havlicek und Mitarbeiter (1968)

TABELLE 2 nach F. Havlicek (1968)

Position des C ¹⁴	n	% der C ¹⁴ - Dosis
-COOH	6	1,191 ± 0,212
-CH ₂ -COOH	10	1,234 ± 0,062
Äthylen	5	0,051 ± 0,024

TABELLE 3 nach F. Havlicek (1968)

Chelat	Dosis (μmol)	n	% der C ¹⁴ - Dosis
Ca-EDTA	1	4	1,353 ± 0,148
	100	6	1,191 ± 0,212
Y(III)-EDTA	100	6	1,175 ± 0,168
Ca-DTPA	1	8	0,724 ± 0,108
	100	5	0,852 ± 0,100
	1000	3	0,848 ± 0,129
Zn-DTPA	1	6	0,860 ± 0,152
	100	6	0,546 ± 0,177

Tabelle 2 und 3 nach F. Havlicek und Mitarbeiter (1968)

Die C^{14} Aktivität nach Injektion beträgt bei C-1 und C-2 markierter EDTA ungefähr 1%, während sie im Fall der am Äthylen markierten Verbindung vernachlässigbar ist. Tabelle 3 gibt Auskunft über den Gehalt an $^{14}CO_2$ in der Atemluft nach 24 Stunden von Ratten des oben genannten Stammes nach Injektion von Verschiedenen, in ^{14}C -1-Acetat markierten Chelatbildnern. Mittelwerte mit Mutungsbe-
reiche ($p = 0,05$); n = Anzahl der Tiere.

Die Experimente von Havlicek und Bohne (1968) zeigen, daß die Chelate einem metabolischen Abbau unterliegen. Der metabolische Abbau betrifft dabei die Chelate selbst und nicht, wie Havlicek zeigen konnte, die bei einer möglichen Autoradiolyse entstehenden Produkte. Der Vergleich der C^{14} -Veratmung von Ca- und Y-III-EDTA bzw. von Ca- und Zn-DTPA läßt erkennen (Tabelle 3), daß Art des chelierten Metallion und Chelatdosis ohne Einfluß auf den metabolischen Abbau sind (der Unterschied zwischen der 1 und 100 μ mol Zn-DTPA-Dosis ist statistisch nicht signifikant), wohl aber die Art des Liganden. EDTA wird rascher abgebaut als DTPA. Etwa 70% des gesamten, in 24 Stunden ausgeatmeten $^{14}CO_2$ erscheint dabei in den ersten 4 Stunden. Tabelle 2 macht ferner deutlich, daß der Abbau im wesentlichen die Acetatgruppe der Chelate betrifft.

d) Bei intakter Nierenfunktion verläuft die Plasmaclearance von 99% der Chelate mit einer Halbwertszeit von ungefähr 20 Minuten äußerst rasch. Dies konnte F. Bohne (1968) an verschiedenen C^{14} markierten Chelaten nachweisen, wie aus den beiden folgenden Abbildungen deutlich wird. Abbildung 1 gibt die Serumclearance der C^{14} markierten Chelate Ca-EDTA, Ca-DTPA und Zn-DTPA bei weiblichen Ratten des Heiligenberg-Inzuchtstammes (Gewicht 200g) bis zur vierten Stunde post injectionem, Abbildung 2 die Serumclearance bis zur vierundzwanzigsten Stunde post inject. wieder.

Da - wie erwähnt - bei intakter Nierenfunktion die Plasmaclearance der Chelate sehr schnell verläuft, kann erwartet werden, daß der metabolische Chelatabbau bei ausgeschalteten Nieren ein wesentlich stärkeres Ausmaß er-

reicht. Havlicek und seine Mitarbeiter (1968) stellten jedoch an Ratten des Heiligenberg-Inzuchtstammes, bei denen Nierenligaturen vorgenommen wurden, fest, daß dies nicht der Fall ist. Sie folgerten daraus, daß der metabolische Chelatabbau hauptsächlich in den Nieren stattfindet und andere Organe und das Blut nur in geringem Maße zur Metabolisierung befähigt sind.

Hinsichtlich des Dekorporationseffektes der Chelatbildner ist der renale Abbau von ungefähr 1,5% belanglos, die Beobachtung ist jedoch insofern von Bedeutung, als sie die Frage nach evtl. durch die Metabolite verstärkte toxische Wirkung der intakten Chelate aufwirft.

Man muß sich dabei vergegenwärtigen, daß die akute LD-50 der Ca-Chelate relativ hoch ist (nach Catsch (1966) bei Ratten des Heiligenberg-Inzuchtstammes 12,5 mmol DTPA/kg und 17,4 mmol EDTA/kg) und der prozentual geringe Abbau, absolut betrachtet, nicht zu vernachlässigen ist.

Unter diesem Gesichtspunkt könnte die Koinzidenz der Metabolisierung der Chelate in den Nieren mit der Tatsache, daß die Toxizität sich vornehmlich in einer Nierenläsion manifestiert, mehr als nur zufällig sein. Definitive Aussagen werden jedoch erst dann möglich sein, wenn es gelungen ist die Metaboliten chemisch zu identifizieren. Die Arbeiten an diesem Problem sind zur Zeit noch in vollem Gang.

Die Abbildungen 1 und 2 nach Bohne und Mitarbeiter (1968) zeigen, daß die Serumclearance bis zu einem Zeitpunkt von 80 Minuten einer einfachen Exponentialfunktion folgt und zu einem späteren Zeitpunkt eine ausgeprägte Verlangsamung erfährt. Auf Grund von Versuchen mit abgebandenen Nierengefäßen sowie durch Kompartimentanalyse und elektrophoretischer Untersuchung des Blutplasmas konnte Bohne (1968) zeigen, daß der längsame Term der Clearancefunktion nicht auf einer Rediffusion des Chelates aus dem intrazellulären Raum beruht, sondern auf einer Bindung der Chelate bzw. ihrer Metabolite durch Plasmaproteine.

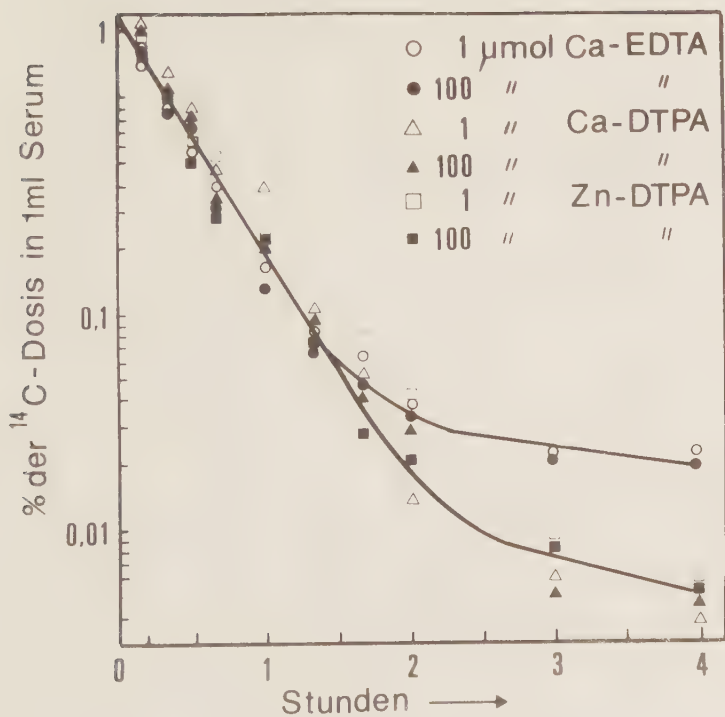


Abbildung 1 nach Bohne et al. (1968)

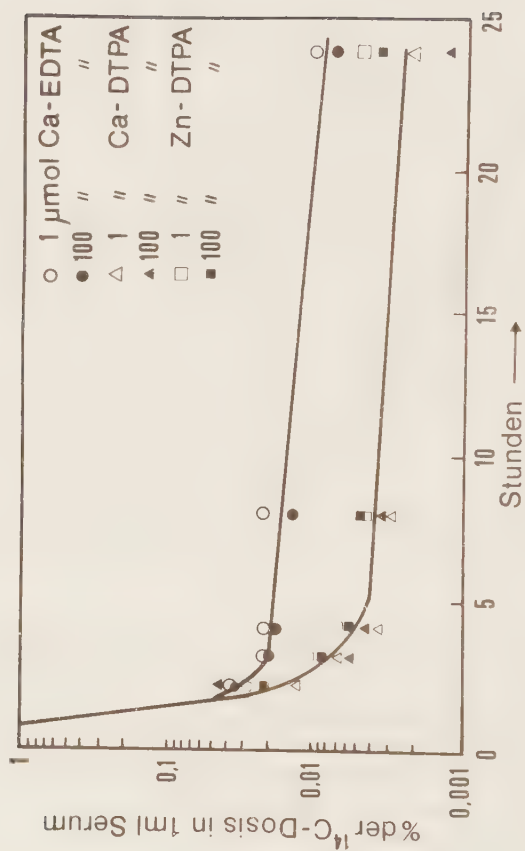


Abbildung 2 nach Bohne et al. (1968)

e) Untersuchungen über die renale Ausscheidung von EDTA haben zu sich widersprechenden Ergebnissen geführt. Während H. Foreman (1960) und Heller et al. (1964) durch Ausscheidung von C^{14} markiertem EDTA im Blut für die renale Exkretion als Modell eine Kombination von tubulärer Sekretion und glomerulärer Filtration vorschlugen, zeigen neueste Versuchsergebnisse, daß der Mechanismus für die Ausscheidung von EDTA über die Niere rein auf glomerulärer Filtration zu beruhen scheint.

An Hand der simultanen "steady state technique" wurde die Exkretion von EDTA und Inulin, sowie ihre Beeinflussung durch tubuläre Blocker durch eine große Anzahl von Autoren (Ahrens, Aronson (1971); Forland, Pullman (1966); Stacy, Thornborn (1966)) an verschiedenen Versuchstieren untersucht.

Stacy und Thornborn konnten - ebenso wie Heller und Vostal (1964) - 1966 an Schafen nachweisen, daß die Clearance des sehr stabilen $^{51}\text{Chrom-EDTA}$ nahezu eins beträgt (bei Schafen 0,95) und daher numerisch mit der des Inulin fast gleich ist. Bestätigt wurden ihre Ergebnisse durch Versuche von Forland (1966, an Hunden) und Aronson et al. (1971, an Hunden, Kälbern und Ratten).

Für Ca-EDTA fand Forland (1966) in 60 Versuchen an Mischlingshunden ein auf Inulin bezogenes Clearance-Verhältnis von $1,02 \pm 0,07$. Die Plasma-EDTA Konzentration wurde bei den Versuchen von 2 bis $50 \mu\text{mol/Liter}$ variiert, die Infusion erstreckten sich auf einen Bereich von 0,01-0,1 mol EDTA bei einer Infusionsgeschwindigkeit von 1,6 oder 3,2 ml/min. Forland konnte ferner nachweisen, daß der Clearance-Wert dabei unabhängig von der EDTA-Plasmakonzentration ist, also eine dosisunabhängige Filtration vorliegt.

f) Zudem zeigten die Versuche Forlands, daß die EDTA-Clearance unabhängig von pH-Wert des Urins und dem Ausmaß der Urinausscheidung ist. Weder eine Alkalisierung des Urins durch Natriumbikarbonat auf $\text{pH} = 7,80$, noch eine Acidifizierung durch 0,05N HCL und NH_4Cl auf $\text{pH} = 6,00$ konnten den EDTA/Inulin Clearancekoeffizienten signifikant verändern. Die ist insofern nicht verwunderlich, als be-

reits 1959 Chaberek und Mortell (1959) nachweisen konnten, daß die Metallchelate der EDTA im pH-Wertbereich von 5,0 - 8,0 keine titrierbaren Gruppen besitzen.

Von besonderem Interesse ist das Verhalten der Chelate beim Einsatz tubulärer Blocker, da hier veränderte Clearancewerte Rückschlüsse auf die Existenz eines Sekretionsmechanismus erlauben würden. Als "saure Blocker" wird dabei vielfach das Probenecid (Benemid) verwendet, das - wie Beyer und Mitarbeiter (1951) zeigen konnten - den tubulären Transport von organischen Säuren wie Paraaminohippursäure (im folgendem abgekürzt als PAH), Phenolrot und Penicillin selektiv und reversibel unterbindet. N'-Methylnicotinamid (abgekürzt als NMN) ist ein Vertreter aus einer Gruppe von basischen und organischen Verbindungen, die einen funktionell eigenständigen tubulären Sekretionsmechanismus besitzen, der weder durch Probenecid gestoppt, noch durch PAH kompetitiv behindert werden kann. Die Ausscheidung von NMN und deren Derivate wiederum wird ohne Einfluß auf die PAH-Sekretion durch Cyanin 863 (1-ethyl-3,6-dimethyl-2-phenyl-4-pyrimido-2'-cyaninechloride) reversibel unterbunden.

Forland (1966), Aronson et al. (1971) und Heller und Mitarbeiter (1964) stellten in umfangreichen Versuchen fest, daß die Exkretion von EDTA weder durch NMN noch durch Probenecid beeinflusst wird. Sowohl in Fall von NMN als auch bei intravenöser Applikation von Probenecid betrug das EDTA/Inulin Clearanceverhältnis eins.

Nach Verabfolgung von Cyanin 863 beobachtete Forland ein Absinken der EDTA-Clearance. Da jedoch analog dazu die Inulin-Clearance absank, blieb das Verhältnis EDTA/Inulin im Vergleich zur Kontrollgruppe konstant, so daß dadurch eine Rückresorption eindeutig auszuschließen ist. PAH wird ähnlich wie Diodrast aktiv durch die Tubuli sezerniert. Dabei ist die Transportkapazität (T_m = tubuläres Transportmaximum) für PAH begrenzt. Würde EDTA als Polyaminopolycarbonsäure einem aktiven Sekretionsmechanismus unterliegen so müßte die T_{mPAH} bei simultaner Applikation von PAH und EDTA auf Grund einer kompetitiven Hemmung kleiner werden. Ebenso müßte sich bei Überschuß von einer der beiden Säuren der Clearancewert der anderen ändern.

Beides hat jedoch nicht der Fall. Obwohl bei einer 100-Körperkonzentration die Werte bei niedrigsten Konzentrationen fast gleich sein, wesentl. ihrer Unterschied in der EDTA-Ekretion feststellen.

Die Tabellen 4-7 nach Arbocz und Aronson (1971) können zur Erklärung des Mechanismus des renalen Transportes von EDTA herangezogen werden.

Tabelle 4 gibt das Verhältnis der Clearancewerte von EDTA und Inulin nach oraler Gabe von NH_4Cl oder CaCl_2 wieder. Die angegebenen Zahlen stellen eine Summe von 15 Clearanceperioden bei 3 Hunden und 45 Clearanceperioden bei 4 Kälbern dar. NH_4Cl wurde den Hunden in einer Dosis von $2,5 \text{ mmol/kg}$ und den Kälbern in einer Dosis von 6 mmol/kg peroral verabreicht. Natriumchlorid wurde sowohl Hunden als Kälbern in einer Dosis von $2,5 \text{ mmol/kg}$ peroral gegeben.

Tabelle 5 zeigt die Clearancewerte von Inulin und EDTA vor und nach einmaliger intravenöser Injektion von 20 mg/kg Probenecid an Hunden und Kälbern. Insgesamt wurde dieser Versuch fünfmal an den Hunden und viermal an den Kälbern wiederholt.

Tabelle 6 gibt Auskunft über die renale Clearance und die Verteilung von EDTA und Inulin sowie ihre Beeinflussung durch Probenecid und N-Methyl-Nicotinamid. Die Kontrollgruppe und die Probenecidgruppe umfaßte jeweils 11 hatten die N-Methyl-Nicotinamidgruppe 2 hatten. Probenecid und NMN wurden intravenös mit einer Geschwindigkeit von $1,2 \text{ mg/min}$ verabreicht. Die Tabelle zeigt, daß die Applikation von NMN und Probenecid ohne Einfluß auf die Clearance von EDTA und Inulin ist.

Aus Tabelle 7 wird der Effekt einer starken Natriumchlorid-Injektion von Ca-EDTA auf die Clearance von Inulin und Paraaminonipputersäure (PAN) sowie auf das maximale Transportmaximum von PAN ermittelt. Ca-EDTA wurde dabei in einer einmaligen Dosis von 100 mg/kg intravenös verabreicht. Insgesamt wurden dem Experiment 4 Hunde (Gewicht: $13,6-29,4 \text{ kg}$) und 3 Kälber (mittlere Körpergewicht: friesische Kälber, Gewicht: $71-124 \text{ kg}$) unterzogen.

TABELLE 4 nach Aronson und Ahrens (1971)

Verabreichte Substanz	Spezies	Clearance des Inulin in ml/min $\pm$ Standard- abweichung	Clearance von EDTA in ml/min $\pm$ Standard- abweichung	Verhältnis der Clearancewerte von EDTA zu Inulin (C_{EDTA}/C_{Inulin})
--------------------------	---------	---	---	---

NH_4Cl	Hunde	74 $\pm$ 0,8	71 $\pm$ 3,0	0,96 $\pm$ 0,02
	Kälber	273 $\pm$ 20	262 $\pm$ 20	0,96 $\pm$ 0,02
$NaHCO_3$	Hunde	68 $\pm$ 4,3	66 $\pm$ 3,6	0,97 $\pm$ 0,03
	Kälber	312 $\pm$ 31	290 $\pm$ 29	0,94 $\pm$ 0,02

TABELLE 4 nach Aronson und Ahrens (1971)

TABELLE 5 nach Aronson und Ahrens (1971)

Experimentelles Vorgehen	Spezies	Clearance des Inulin in ml/min + SA	Clearance von EDTA in ml/min + SA	Verhältnis der Clearancewerte von EDTA und Inulin ($C_{\text{EDTA}}/C_{\text{Inulin}}$) + SA
Vor Gabe von Probenecid	Hunde Kälber	62 ± 8,7 312 ± 31	58,2 ± 7,3 291 ± 28	0,95 ± 0,04 0,94 ± 0,02
Nach Gabe von Probenecid	Hunde Kälber	62 ± 6,7 315 ± 23	59,0 ± 6,3 298 ± 25	0,95 ± 0,02 0,94 ± 0,02

Tabelle 5 nach Aronson und Ahrens (1971)

TABELLE 6 nach Aronson und Ahrens (1971)

Gruppe	Clearance		Volumenverteilung		
	Clearance Inulin in ml/min + SA	Clearance EDTA in ml/min + SA	C _{EDTA/C} Inulin	Inulin in % + SA	EDTA in % + SA
Kontroll- gruppe	3,3 ± 0,11	3,2 ± 0,12	0,96 ± 0,01	21,4 ± 0,92	23,1 ± 1,1
Probenecid- gruppe	3,3 ± 0,11	3,1 ± 0,11	0,96 ± 0,01	22,3 ± 1,0	14,6 ± 1,3
NMN- gruppe	3,3 ± 0,06	3,1 ± 0,04	0,94 ± 0,02	---	---

Tabelle 6 nach Aronson und Ahrens (1971)

TABELLE 7 nach Aronson und Ahrens (1971)

Vorgehen	Spezies	Clearance in ml/min + Standardabw.			Transportmaximum in mg/min + SA	
		C _{Inulin}	C _{PAH}	C _{Inulin}	T _m _{PAH}	
Vor Verab- folgung von Ca-EDTA	Hunde	75 ± 3,8	260 ± 35	76,8 ± 4,0	16,3 ± 1,1	
	Kälber	334 ± 32	1379 ± 130	----	----	
Nach Verab- folgung von Ca-EDTA	Hunde	75 ± 3,8	261 ± 24	79,9 ± 2,1	16,8 ± 1,2	
	Kälber	332 ± 35	1417 ± 134	----	----	

Tabelle 7 nach Aronson und Ahrens (1971)

Die Tabellen 4-7 nach Ahrens und Aronson (1971) machen deutlich, daß die Nierenclearance von EDTA weder durch NH_4Cl noch durch NaHCO_3 noch durch Probenecid oder N-Methyl-Nicotinamid verändert werden kann. Ferner hat die Gabe von Ca-EDTA weder auf das tubuläre Transportmaximum von PAH noch auf deren Clearancewert, oder den Clearancewert von Inulin Einfluß. Der Exkretion der Ca-Chelate und ihrer Metabolite liegt somit als Ausscheidungsmodus eine dosisunabhängige renale Filtration zu Grunde. EDTA zeigt damit das gleiche Verhalten wie Inulin, das heißt, es wird weder sezerniert noch resorbiert. Ein aktiver Sekretionsmechanismus, sowie kompetitive Hemmung durch tubuläre Blocker ist also auszuschließen. Die renale Clearance von EDTA ist mit 20 Minuten äußerst rasch. Bei intakter Nierenfunktion ist also unabhängig von der applizierten Chelatdosis eine vollständige und schnelle Exkretion zu erwarten. Hinsichtlich der Toxizität der Chelate ergeben sich daraus folgende Fragen: Wie verhalten sich die Chelate bei Niereninsuffizienz? Welche Einwirkung haben die Chelate auf die Niere und andere Organe in Abhängigkeit von Gewebsdisposition und Verweildauer?

III SYMPTOMATIK DER CHELATIN- TOXIKATION: KLINISCHES UND HISTOPATHOLOGISCHES ER- SCHEINUNGSBILD

a) Bereits 1955 wurde von Dudley und Holland (1955) auf ernste toxische Nebenwirkungen von EDTA hingewiesen. Sie berichten in 2 Fällen von zentralnervösen Störungen (Verwirrtheit, Übelkeit, Kopfschmerzen) bei oralen Mosatilgaben in einer Dosierung von 2-4 g/die.

Mittlerweile sind mindestens 4 Todesfälle nach Verabfolgung von EDTA bekannt, deren Symptomatik kurz in der Einleitung dieser Arbeit beschrieben wurde. Todesursache war letztlich in allen 4 Fällen eine rasch einsetzende Urämie.

Die Niere, im Hinblick auf ihre Rolle als Blutfiltrator ist durch chemische Umwelteinflüsse besonders verwundbar. Veränderungen der Nierenstruktur und -funktion sind oft Folge exogener Noxen, die sich durch akutes Nierenversagen, Nierensyndrome, tubulärer Dysfunktion und chronische Nephritis manifestieren. Chemische Umwelteinflüsse und vor allem Schwermetalle können alle diese Schäden hervorrufen, abhängig von den Umständen der Verabfolgung. Entsprechend dem Modus der Verabreichung ist das histopathologische Bild der Niere in den oben zitierten Fällen. Bei dem von Weinig und Schwerd (1958) berichteten Fall (siehe Einleitung) ergab die histologische Untersuchung der Niere post exitum folgendes Bild:

"Massive degenerative Veränderungen der Tubulusepithelien, vor allem in den Hauptstücken, aber auch in den anderen Teilchen des Kanälchensystems, am geringsten in den Sammelrohren. Epithelien der Tubuli contorti I stark verschmälert, fein bis mitteltropfig verfettet, Kerne unregelmäßig geformt, vielfach plattgedrückt und verklumpt. In den distaleren Abschnitten des Tubulussystems Epithelablösungen, reichlich Eiweißzylinder mit Fettröpfchen in den stark

erweiterten Sammelrohren, Glomeruli meist ohne stärkere Veränderungen, vereinzelt in Rückbildung oder bereits obliteriert. Leichte arteriosklerotische Gefäßveränderungen, kleine lymphozytäre Rindeninfiltrate. Beim histochemischen Bleinachweis schwarzbraune Körnchen in wechselnder Intensität in den Tubulusepithelien."

Neben der Niere wiesen in dem von Weinig und Schwerd (1958) zitierten Fall andere Organe ebenfalls pathologische Veränderungen auf, doch sind diese bei weitem nicht so ausgeprägt. In der Lunge sind vereinzelt herdförmige Entzündungen zu beobachten und die Leber zeigt Anzeichen eines toxischen Ödems: die Zellkerne sind vielfach aufgetrieben und das Protoplasma vergrößert. Die Kapillärwände haben sich von den Zellbalken abgehoben, in den Dissessen-Räumen befinden sich Eiweißmassen.

Der Bleigehalt der einzelnen Leichenanteile nach polarographischer Bestimmung nach Weinig (1958) betrug:

Blut: 99 g/100g, Leber: 195 g/100g

Niere: 340 g/100g, Knochen: 1,4 mg/100g

Das Verhalten der Bleiwerte im Blut läßt erkennen, daß das Blei durch die Mosatilbehandlung zwar mobilisiert, aber nicht in genügendem Maße ausgeschieden wurde.

In diesem Zusammenhang sind Versuchsergebnisse von Bohne und Mitarbeiter (1968) von Interesse, die zeigen, daß die renale Clearance von mit EDTA vergifteten Tieren eindeutig verlangsamt ist, das heißt, daß offenbar eine Hemmung der glomerularen Filtration vorliegt; eine Annahme, die in Hinblick auf die ödematöse Verklumpung der Glomerula plausibel erscheint. Das bedeutet, daß die Gefährlichkeit der Antidote umso größer wird, je geringer die Zahl der aktiven Glomerula ist. Die Toxizität ist somit abhängig von Alter und Prädisposition

Zur Bestätigung der Tatsache, daß die Nephrotoxizität hoher Chelatdosen einen Einfluß auf die Clearancegeschwindigkeit ausübt, erhielten 27 Ratten des Heiligenberg-Inzuchtstammes (Gewicht etwa 200g) von Bohne und Mitarbeiter (1968) an fünf aufeinanderfolgenden Tagen Ca-EDTA. Die Dosis betrug 4 mmol/kg und Tag. 24 Stunden nach der

letzten Chelatdosis wurde 1 mol ^{14}C -EDTA injiziert. Die Abbildung 3 nach Bohne et al. gibt das Verhältnis der Serumclearance von mit EDTA vergifteten Tieren zur Kontrollgruppe wieder und zeigt, daß die Clearance mit einer Halbwertszeit von 30 Minuten bei den mit EDTA vergifteten Tieren eindeutig verlangsamt ist. (Abbildung 3 siehe nächste Seite)

Weinig und Schwerd (1958) sehen deshalb die Gefahr einer Mosatilbehandlung vor allem darin, daß die Niere auf einen aktiven Bleischub mit verminderter Glomeruluszahl reagieren muß, während bei chronischen Bleivergiftungen Epithel und Gefäßsystem Zeit haben, sich auf ein erhöhtes Bleiangebot einzustellen. Besonders gefährlich wirkt sich nach ihrer Ansicht eine Dekorporationsbehandlung dann aus, wenn zusätzlich bereits vor der Behandlung eine renale Insuffizienz vorliegt, wie das in dem erwähnten Todesfall in Form einer leichten Arteriosklerose der Fall war.

b) Die oben beschriebenen Nierenalterationen sind typisch für EDTA und im Experiment reproduzierbar. So beobachteten Melvin und Mitarbeiter (1966) und Reuber et al. (1967) an Ratten des Marshall-, Buffal-, Fischer- und ACI-Stammes hydropische Schwellung des Cytoplasmas des proximalen Konvolutes nach ip. Gabe von 500mg/kg und Tag an EDTA in Form einer 20% CaEDTA-Lösung.

Zwar waren die Nierenveränderungen in den einzelnen Rattenstämmen verschieden stark ausgeprägt, doch waren folgend histopathologischen Befunde für alle vier Stämme zutreffend:

"Das Cytoplasma des proximalen Konvolutes ist geschwollen, die Kerne sind pyknotisch oder fehlen ganz. Der Bürstensaum ist teilweise oder vollständig unterbrochen, Lipide oder Glykogen sind im zellfreien Raum nicht nachweisbar, dafür jedoch Hyalinablagerungen in den Tubuli der inneren Kortex und in der Medulla."

Am schwersten waren die Ratten des ACI-Stammes betroffen, am geringsten die des Marshall-Stammes. Eine plausible Erklärung für die unterschiedliche Schädigung der Niere

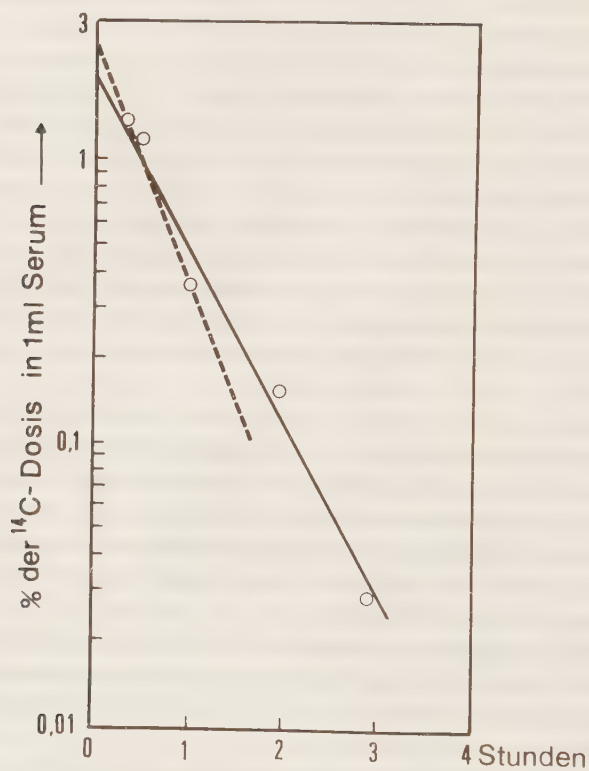


Abbildung 3 nach Böhne et al. (1968)

der einzelnen Rattenstämme mag der Unterschied in den jeweiligen Hormonsystemen sein. Genauere diesbezügliche Untersuchungen liegen jedoch bisher nicht vor.

Von Interesse für eine weitere Verabfolgung dieser Problematik sind nun vor allem folgende Gesichtspunkte:

- 1.) die Nierenalterationen in Abhängigkeit von der Art des Chelates,
- 2.) die Dosisabhängigkeit der jeweiligen Nierenveränderungen,
- 3.) der zeitliche Verlauf der Nierenalterationen.

c) Es ist bekannt, daß die Ausscheidung von Blei bei Verabreichung von DTPA etwa um hundertmal größer ist als bei EDTA. Analog dazu wäre eine höhere Toxizität von DTPA zu erwarten.

Weber (1970) konnte 1969 nachweisen, daß die Überlebenszeit von Ratten im Chelat-Toxizitätsversuch tatsächlich chelat- und dosisabhängig ist. Er führte vergleichende Untersuchungen der histopathologischen Nierenveränderungen an Rattenmännchen des Heiligenberg-Inzuchtstammes (Gewicht: circa 200g) mit ip. oder sc. verabreichten CaNa_2EDTA und Na_3CaDTPA durch. In zwei Versuchsreihen kamen insgesamt 782 chelatbehandelte und 245 Kontrolltiere zur histologischen Untersuchung.

In der ersten Versuchsreihe wurden die Wirkungen der Einzeldosen von 1-, 2-, 4-, und 8 mmol EDTA/kg und Tag untereinander und mit den Wirkungen derselben Dosen DTPA verglichen. Hier die wichtigsten Ergebnisse:

Die Überlebenszeit der Tiere ist chelat- und dosisabhängig. EDTA führt bei einer Einzeldosis von 8 mmol/kg und Tag nach 3-4 Tagen, DTPA bei dergleichen Einzeldosis nach 2 Tagen zum Tod. Bei Einzeldosen von 4 mmol/kg und Tag waren 4-6 EDTA-Injektionen und 2-3 DTPA-Injektionen letal. Bei einer Einzeldosis von 2 mmol/kg und Tag war EDTA auch nach 14 Injektionen nicht letal, DTPA führte demgegenüber bei der gleichen Dosis nach 3-5 Tagen, und bei einer Einzeldosis von 1 mmol/kg und Tag nach 6-8 Tagen zum Tod.

Neben der erhöhten Ausscheidung besitzt DTPA also eine erhöhte Toxizität, die beim Vergleich der Anzahl der nötigen letalen Dosen etwa dem zweifachen Wert von EDTA entspricht.

Zu einem ähnlichen Ergebnis kam auch Catsch (1964), der feststellte, daß DTPA etwa zweimal so toxisch ist wie EDTA.

Die größere Giftigkeit von DTPA könnte dadurch bedingt sein, daß DTPA eine größere Effektivität bei der Mobilisierung essentieller Spurenelemente besitzt als EDTA, was wiederum in Einklang mit der (gegenüber EDTA) 100-fach größeren Ausscheidung von DTPA steht.

Genaue Werte über die toxischen Dosen der beiden Chelate geben die Untersuchungen von Pleskova et al. (1967), die die LD_{50} für $CaNa_2EDTA$ und $CaNa_3DTPA$ an Mäusen bestimmten. Sie beträgt bei iv. Verabreichung für Mosatil 5,54g/kg und für $CaNa_3DTPA$ 0,75g/kg. Bei ip. Verabreichung wurde für $CaNa_2EDTA$ ein LD_{50} -Wert von 8,89g/kg ermittelt. Auf Grund der chemischen Ähnlichkeit beider Chelate und des gleichen Wirkungsmechanismus sind in Bezug auf die Nierenläsionen quantitativ unterschiedliche, qualitativ jedoch gleich pathologische Effekte zu erwarten, das heißt, die erhöhte Toxizität von DTPA müßte sich auch in einem erhöhtem Ausmaß von Nierenläsionen manifestieren.

d) Die fundamentalsten Untersuchungen darüber stammen ebenfalls von Weber (1970), der unter den in Teil c genannten Versuchsbedingungen zu folgenden Ergebnissen kam:

Die Chelate EDTA und DTPA haben an den Nieren vielfach auch qualitativ unterschiedliche Effekte.

Für EDTA ist charakteristisch, daß es eine hydropische Degeneration der gewundenen Teile der proximalen Tubuli herbeiführt. Nach DTPA werden dagegen auffallend die geraden Teile der proximalen Tubuli alteriert. Die Vakuolisierung der Zellen ist hier morphologisch von der hydropischen Degeneration in der pars convoluta verschieden, die Zellen ähneln vielmehr den sogenannten Armanni-Ebstein Zellen von Diabetesnieren. Vereinzelt lassen sich Glykogengranula nachweisen.

Das differenzierte Erscheinungsbild wird von Weber (1970) auf die höhere Dosisschwelle der pars recta gegenüber der Chelatwirkung zurückgeführt. Bezogen auf die einzelnen Nierenabschnitte ergibt sich folgendes Bild:

Glomerulus: Die Glomerulusalterationen sind bei beiden Chelaten ähnlich und nicht erkennbar proportional zur Dosis. Veränderungen der Glomeruli sind bei EDTA mit Einzeldosen von 4 mmol/kg und Tag bei einer Gesamtdosis von 12 mmol/kg, mit Einzeldosen von 8 mmol/kg und Tag bei einer Gesamtdosis von 8 mmol/kg zu erkennen, während DTPA bereits bei einmaliger Gabe von Einzeldosen von 2 mmol/kg und Tag, 4 mmol/kg und Tag und 8 mmol/kg und Tag zu histopathologischen Veränderungen der Glomerulusstruktur führt. Bei Einzeldosen der DTPA von 1 mmol/kg und Tag treten ab einer Gesamtdosis von 3 mmol/kg Veränderungen der Glomeruli auf. Die Bowmannsche Kapsel ist dann erweitert. Die Kapillarschlingen erscheinen verklebt, die Basalmembran ist weniger scharf darstellbar. Vereinzelt tritt Hyalinisierung auf.

Proximales Konvolut: Die histopathologischen Veränderungen sind für die beiden Chelate jeweils charakteristisch und dosisabhängig. Sie bestehen im Auftreten kleiner zellmedian bis basal gelegener, gleichförmig rundlicher Vakuolen und Abblassung und Vergrößerung der Perjodsäure positiven Granula. Eine große Anzahl der Lumina der Tubuli sind durch blasig aufgetriebene, optisch leere Zellen verlegt, andere sind dilatiert. Durch EDTA degenerieren vorwiegend die Tubuli der äußeren -, durch DTPA diejenigen der inneren Rinde. Bei äquimolaren Chelatdosen ist in diesem Teil die Vakuolisierung nach Gabe von EDTA deutlich stärker als nach Gabe von DTPA.

Gerader Teil des proximalen Tubulus: Auch hier finden sich chelat- und dosisabhängige Nierenalterationen, die in abgeschwächter Form histologisch denen des proximalen Konvolutes ähneln. Die Zellkerne sind pyknotisch, häufig tritt Karyorexhexis auf. Es lassen sich sowohl bei EDTA als auch bei DTPA stark vakuolisierte, blasige Zellen nachweisen, in denen Glykogengranula abgelagert sind.

Die Lumina sind dilatiert oder verlegt. Der Bürstensaum ist unregelmäßig oder aufgehoben.

Dünnes Segment: Die Zellen scheinen nicht alteriert zu werden. Bei hohen Einzeldosen (8 mmol/kg und Tag) können aber im Mark-Rindenbereich Segmente zerfallen. Chelat- und dosisabhängig tritt dann Glykogen auf.

Distaler Tubulus: Die histologischen Veränderungen nach Gaben von EDTA und DTPA sind gering und bestehen in einer Hypertrophie der Zellen der geraden Teile im Mark. Die Zellen haben dann ein klares apikales Plasma und vakuoläre Höfe um die Kerne. Vereinzelt und unabhängig von Chelat und Dosis treten hyaline Zylinder oder amorphe Perjodsäure positive, Diastase-resistente Tubuluseinschlüsse auf. Die Zellen der betroffenen Tubuli sind dann atrophisch, die Kerne zum Teil pyknotisch.

Sammelrohre: Veränderungen in den Sammelrohren treten nur dann auf, wenn alle anderen Abschnitte bereits Veränderungen aufweisen. Sie bestehen in einer Dilatation des Epithels und Auftreten hyaliner Zylinder. Ab und zu sind die Kerne pyknotisch.

e) In einer zweiten Versuchsreihe wurden von Weber (1970) Ratten des Heiligenberg-Inzuchtstammes (Gewicht: um 200g) über einen Zeitraum von 34 Tagen 11 Injektionen von 2,5 mmol/kg und Injektion an EDTA oder DTPA ip. verabreicht. Nach Abschluß des Versuches wiesen die Versuchstiere nur geringe Nierenläsionen - und keine hydropischen Degenerationen - auf, obwohl die Gesamtdosis von 27,5 mmol/kg DTPA absolut tödlich gewesen wäre. Es trat lediglich eine Hypertrophie des Gewebes und eine Vermehrung der Kernzahl auf, was als Kompensationsprozeß gegenüber dem Chelat gesehen werden kann.

Die cytologischen Alterationen nach Gaben von EDTA und DTPA regenerieren also rasch. Die Regenerationsfähigkeit des Nierengewebes gegenüber Schäden auf Grund der oben genannten Antidote ist ziemlich groß. Nach Weber führen deshalb auch nur soch Läsionen zum Tod, deren Regeneration durch kurz aufeinanderfolgende Chealtin-

jektionen verhindert wird. In Übereinstimmung damit sei nochmals auf die Ergebnisse Bohnes et al. (1968) hingewiesen, wonach bei hohem Chelatangebot die Zahl der aktiven Glomeruli abnimmt, damit die Clearance vermindert und somit die Toxizität der angewandten Chelate erhöht wird. EDTA und DTPA rufen also an der Niere eindeutige und signifikante histopathologische Veränderungen hervor, die jedoch in ihrem Ausmaß von Dosis und Zeitfolge der verabreichung abhängig sind. Bei hohem Chelatangebot unterliegen dann Glomeruli und proximaler Tubulus den schwersten Alterationen.

Es ist jedoch nicht statthaft, strukturellen Befunden physiologische Bedeutung zuzumessen, wenn die funktionellen Beziehungen unbekannt sind. Eine eindeutige Beziehung zwischen Letalität und Toxizität der Polyaminopolycarbonsäuren und den histopathologischen Nierenbefunden kann nur dann als gegeben angesehen werden, wenn der genaue Entstehungs- und Wirkungsmechanismus der Alterationen bekannt ist. Unerlässlich hierfür ist ein Verständnis der biochemischen Vorgänge.

IV BIOCHEMISCHE ASPEKTE DER CHELATTOXIZITÄT

a) Die im letzten Abschnitt erwähnten Versuche von Weber (1969) zeigen, daß hinsichtlich der histologischen Veränderungen von allen Nierensegmenten nur den Glomerula und dem proximalen Konvolut eine chelat- und dosisabhängige Schädigung zugeschrieben werden kann. Hinsichtlich des Verhaltens von saurer und alkalischer Phosphatase konnte Weber jedoch in allen Nierensegmenten eine Dosis- und Chelatabhängigkeit nachweisen, und zwar nehmen die Aktivitäten der oben genannten Enzyme proportional zur Einzeldosis und bei DTPA stärker als bei EDTA ab.

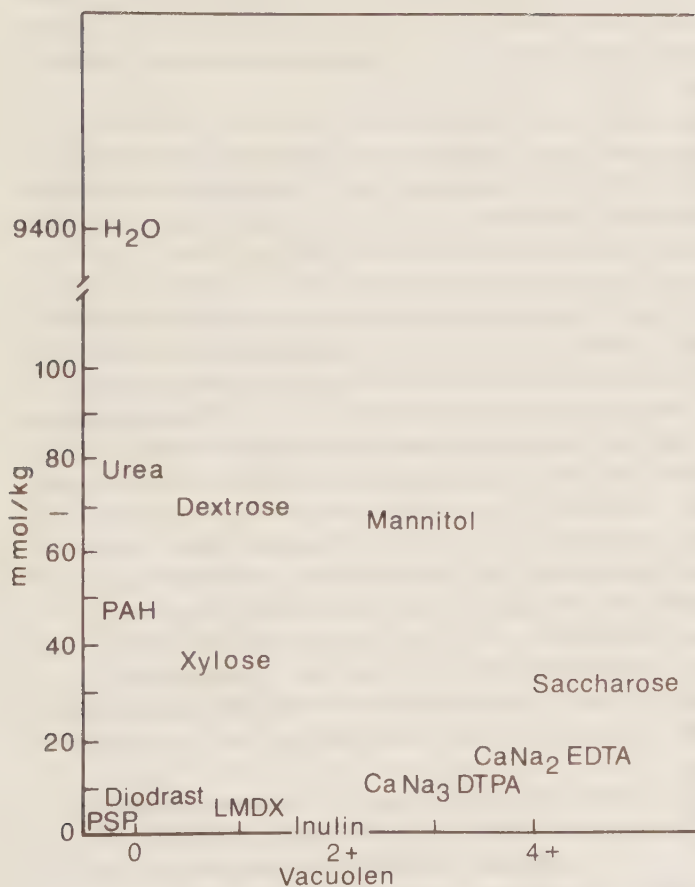
Die histochemischen Befunde scheinen damit eindeutiger zu sein als die histologisch-cytologischen:

Es besteht eine große Ähnlichkeit zwischen der vakuoligen Degeneration in den Nierenepithelien, hervorgerufen durch Chelate und den Vakuolen, die bei der Einnahme der Zucker Saccharose und Mannitol beobachtet werden. Diese Ähnlichkeit ist bereits 1965 von Di Scala et al. (1965) und 1962 von Maunsbach et al. (1962) beschrieben worden und ist später von Doolan und Mitarbeiter (1967) sowie von Schwartz et al. (1970) untermauert worden.

Unter der Annahme, daß Saccharose-Vakuolen lysosomaler Natur sind, läßt sich ein Zusammenhang zwischen EDTA bedingten Vakuolen und Veränderungen an renalen Lysosomen herstellen. Dieser Zusammenhang würde im Verhalten lysosomaler Enzyme seine Bestätigung finden.

Abbildung Nr. 4 nach Doolan et al (1967) zeigt die in Bezug auf das Ausmaß der Vakuolisierung enge Korrelation zwischen Saccharose und CaNa_2EDTA einerseits und Mannitol und CaNa_3DTPA andererseits. Gemessen wurde das Ausmaß der Vakuolisierung im tubularen Epithelium der Rattenniere, 24 Stunden nach ip Injektion von Dextrose, Mannitol, Xylose Saccharose, CaNa_3DTPA und CaNa_2EDTA in verschiedener Dosierung (mmol/kg).

Mitarbeiter (1967)



Um den Zusammenhang zwischen Vakuolisierung und Lysosomen zu verifizieren und zu spezifizieren bedarf es zuerst einer genauen Analyse der Natur der Vakuolen: Es ist bereits aufgezeigt worden (Kapitel II, Abschnitte e und f), daß die Clearance von EDTA der von Inulin gleicht und daher numerisch mit der glomerulären Filtrationsrate von Inulin übereinstimmt. Das heißt, EDTA wird ohne Sekretion abfiltriert und kann daher die tubulären Nierenzellen am leichtesten von der luminalen Seite her penetrieren.

Untersuchungen von Doolan et al. (1967) mit Mannitol, Saccharose und EDTA, bei denen es zu einer Auswertung des 24-Stunden-Urins gekommen war, zeigen, daß Vakuolisierung sowohl mit als auch ohne Diurese auftritt. Diese Beobachtung sowie die Ergebnisse von Wilmer (1944) über Saccharose abhängige Alterationen bei einseitiger urethraler Ligatur legen den Schluß nahe, daß die Vakuolen durch den Vorgang der Pinocytose entstehen. Die morphologischen Änderungen des Nierenepithels, hervorgerufen durch CaNa_2EDTA und CaNa_3DTPA (über die histopathologischen Zustandsbilder siehe vorhergehendes Kapitel), beginnen demzufolge mit der Pinocytose, entwickeln sich durch Zufluß und in Relation zu der osmotischen Aktivität der Teilchen und enden mit der Extrusion über einen lysosomalen Mechanismus. Die Kopplung von Pinocytose und lysosomalem System wurde auch 1966 von De Duve und R. Wattiaux postuliert und unter der Bezeichnung "Vakuolärer Apparat" in die medizinische Literatur eingeführt. Untermauert wird die Existenz des "Vakuolären Apparates" durch Forschungsergebnisse von Schwartz und Mitarbeiter (1970):

Schwartz verabreichte männlichen Albino-Sprague-Dawley Ratten intravenöse Lösungen von markierten $\text{CaEDTA-}^{14}\text{C}$, $\text{CrEDTA-}^{14}\text{C}$, $^{45}\text{CaEDTA}$ und $^{51}\text{CrEDTA}$ in einer Dosis von 2,67 mmol/kg. Die Ratten hatten ein durchschnittliches Gewicht von 200-250g.

In allen Fällen konnte in den Kortikalzellen der Rattenieren Radioaktivität nachgewiesen werden, die teilweise

sedimentierbar war. Zentrifugation der Homogenate der Nierenkortex und anschließender Vergleich der Dichtegradienten auf Saccharose-Wasser-Basis ergab dabei folgendes Bild:

Die Radioaktivität des applizierten $\text{CaEDTA-}^{14}\text{C}$ und der zwei stabilen, oben erwähnten, Chrom-EDTA-Komplexe hat ihr Maximum in der gleichen Dichtezone wie die lysosomale saure Phosphatase, während der peak für die Radioaktivität des verabreichten $^{45}\text{CaEDTA}$ mit dem der mitochondrialen Cytochromoxidase übereinstimmt.

Abbildung Nr. 5 nach Schwartz et al. (1970) gibt die unter den oben erwähnten Versuchsbedingungen erzielten Ergebnisse wieder.

Frühere Untersuchungen von Schwartz und Mitarbeiter (1967) erbrachten unter den oben zitierten Versuchsbedingungen ähnliche Ergebnisse für $\text{CaEDTA-}^{14}\text{C}$ und die lysosomalen Enzyme saure Phosphatase, Arylsulfatase und saure Ribonuklease. Auch hier sammelte sich nach der Zentrifugation die sedimentierbare Aktivität des markierten EDTA in der Fraktion, in der zuvor die größten Konzentrationen der lysosomalen Enzyme gefunden wurden. Die Verteilung der verschiedenen Enzyme ist in Abbildung Nr. 6 dargestellt.

Ein Vergleich der Abbildungen Nr. 5 und Nr. 6 zeigt, daß die lysosomalen Enzyme die gleiche Dichtezone und damit den gleichen Teilchenraum wie $\text{CaEDTA-}^{14}\text{C}$, $\text{CrEDTA-}^{14}\text{C}$ und $^{51}\text{CrEDTA}$ aufweisen.

In Zusammenhang mit den im vorhergehenden Kapitel beschriebenen histologischen Beobachtungen läßt sich deshalb feststellen, daß die EDTA-bedingte Vakuolisierung ("vakuolige Degeneration") eine Kopplung von Pinocytose und Lysosomen darstellt, und so der "vakuoläre Apparat" als Bindeglied zwischen den histopathologischen und biochemischen Veränderungen anzusehen ist.

b) Ähnlich wie das Auftreten der histopathologischen Veränderungen (hydropische Degeneration) in bestimmten Nierenabschnitten chelat- und dosisabhängig ist, scheint

Mitarbeiter (1970)

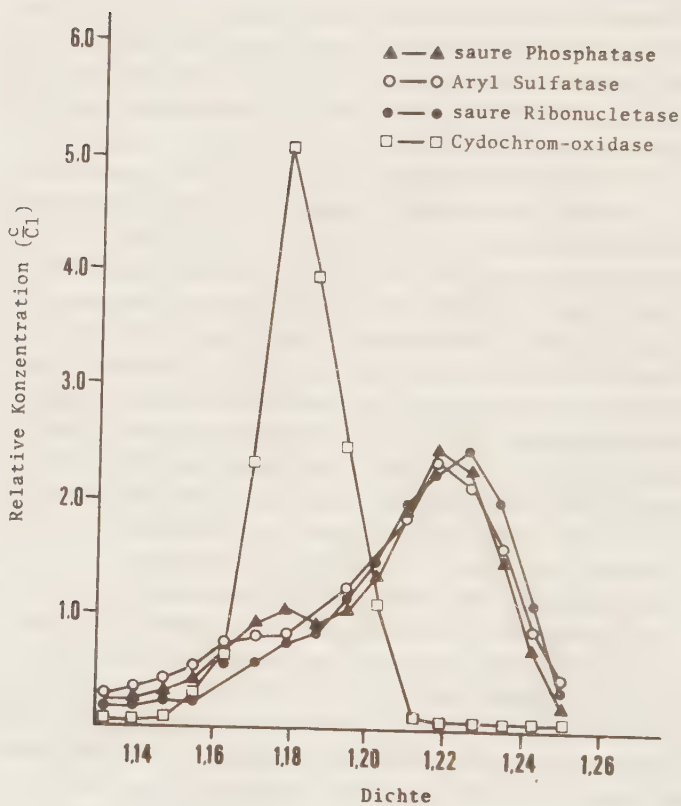


Abbildung 5 nach Schwartz et al. (1970)

Mitarbeiter (1970)

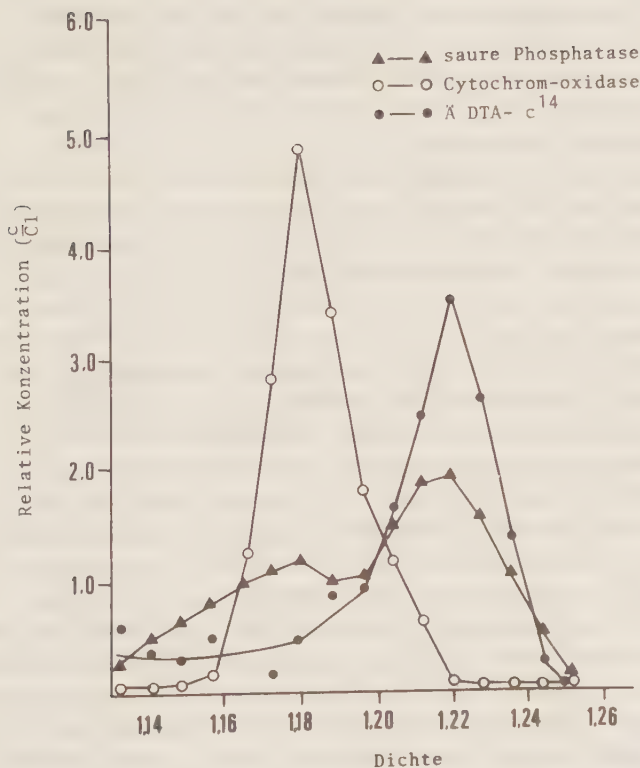


Abbildung 6 nach Schwartz et al. (1970)

die Existenz des "vakuolären Apparates" zeit- und dosisabhängig zu sein.

Bei intravcnöser Applikation von 10 mg, 100 mg und 1000 mg CaEDTA-¹⁴C konnte Schwartz mit seinem Team (1967) in den beiden unteren Dosisbereichen bei männlichen Albino-Sprague-Dawley-Ratten (Gewicht: 210-260g) kein erhöhtes Maß an Vakuolisierung erzielen, bei der 1000 mg Dosis trat jedoch eindeutig eine erhöhte Vakuolisierung auf, die analog dazu mit einer Abnahme der Aktivität der lysosomalen Enzyme saure Phosphatase, Arylsulfatase und Ribonuklease einherging.

Außerdem konnte Schwartz mit seinen Mitarbeitern feststellen, daß das Auftreten der Vakuolen und die damit einhergehende Abnahme der Aktivität verschiedener lysosomaler Enzyme zeitspezifisch ist, also erst nach Ablauf einer bestimmten Frist histologisch und biochemisch manifest wird.

In einer zweiten Versuchsreihe injizierten Schwartz et al. (1966) den Albino-Sprague-Dawley-Ratten 1,0 und 2,5 g EDTA/kg intraperitoneal und untersuchte die Aktivitäten der oben genannten lysosomalen Enzyme im Abstand von 2 und 24 Stunden. Bei allen Dosen und sowohl nach 2 wie auch nach 24 Stunden trat Vakuolisierung in der Nierenrinde - und hier vor allem im proximalen Konvolut - auf. Während jedoch die Vakuolen nach zwei Stunden klein und relativ selten waren, fand sich nach 24 Stunden sowohl nach Gabe von 2,5 g/kg EDTA als auch nach Gabe von 1,0 g/kg EDTA eine große Anzahl von ausgeprägten Vakuolen. Zusätzlich zu den histopathologischen Erscheinungen bei ip. Dosierung von 1,0 g/kg EDTA konnte man bei Verabreichung von 2,5 g/kg des Chelates eine Unterbrechung des Bürstensaumes und das Vorhandensein von freien Nuclei in den tubulären Lumina beobachten. Auch hier liegt also eine gewisse Zeit-Dosis-Relation der Chelateinwirkung vor.

Analog zu dieser Zeit-Dosis-Relation im Auftreten der Vakuolen wurden enzymatische Veränderungen erkenntlich. Nach 2 Stunden konnten Schwartz et al. weder bei der

Verabfolgung von 1,0 g/kg noch bei der von 2,5 g/kg des Chelates eine Änderung im Enzymgehalt der zentrifugierten Fraktion oder in der totalen spezifischen Aktivität (totale spezifische Aktivität = Summe der bestimmten Radioaktivität des markierten Chelates/ Summe des bestimmten Proteins) der Enzyme finden.

Im Gegensatz dazu konnten er und seine Mitarbeiter signifikante enzymatische Veränderungen nach Gabe von 1,0 g/kg und 2,5 g/kg EDTA nach 24 Stunden feststellen. Sie manifestieren sich in einer Abnahme der Enzyme Arylsulfatase, saure Phosphatase und saure Ribonuklease in den Kerngewichtsfraktionen. Bei der 1,0 g/kg Dosis ist ein starker Abfall vor allem in der 300g, in der 650g und in der 5000g Fraktion zu verzeichnen.

Die Tabellen 8 und 9 geben die genauen Werte der spezifischen Aktivitäten der Enzyme bei der von Schwartz et al. (1966) durchgeführten Untersuchung wieder. Tabelle 8 zeigt die spezifischen Aktivitäten der oben genannten Enzyme im proximalen Konvolut der Rattenniere (Albino-Sprague-Dawley-Ratten, Gewicht: 210-260g) 2 Stunden nach Verabreichung einer Dosis von 1,0 g/kg EDTA, Tabelle 9 die spezifischen Aktivitäten 24 Stunden nach Verabreichung der gleichen Dosis. Die spezifische Aktivität des lysosomalen Enzyms Arylsulfatase wurde gemessen an freigesetzten m mol 4- Nitro catechol/min und mg Protein, die des lysosomalen Enzyms saure Phosphatase an freigesetzten m mol Nitrophenol/min und mg Protein.

Das gemeinsame Auftreten der histopathologischen Veränderungen mit den enzymatischen Veränderungen legt die Annahme der Kopplung von histologischen und histochemischen Mechanismen bei der Chelatintoxikation nahe. Der Zeitunterschied zwischen der Bildung der Vakuolen und dem Abfall der spezifischen Aktivität der lysosomalen Enzyme bedeutet nur, daß die Enzymveränderungen zeitlich sekundär zu den morphologischen Alterationen sind. Der "vakuoläre Apparat" ist also Voraussetzung für enzymatische Veränderungen. Morphologisch-histo-

Tabelle 8 nach Schwartz et al. (1966)

Kernge- wichts- fraktion	Arylsulfatase		saure Phosphatase		saure Ribonuklease	
	Kontroll- gruppe	EDTA- gruppe	Kontroll- gruppe	EDTA- gruppe	Kontroll- gruppe	EDTA- gruppe
300	33,87 ± 4,51	32,25 ± 7,66	77,21 ± 18,75	71,56 ± 7,94	1,75 ± 0,11	1,71 ± 0,24
650	43,30 ± 8,95	33,30 ± 6,53	92,85 ± 15,19	86,41 ± 11,79	1,50 ± 0,10	1,55 ± 0,27
5000	22,58 ± 6,61	25,00 ± 3,70	79,85 ± 14,32	72,72 ± 8,74	0,96 ± 0,20	1,31 ± 0,34
15000	18,54 ± 2,90	27,65 ± 5,40	64,77 ± 13,06	68,11 ± 7,25	0,55 ± 0,26	0,70 ± 0,29
150000	9,43 ± 4,30	12,90 ± 6,04	61,44 ± 11,39	65,92 ± 9,55	0,53 ± 0,25	0,67 ± 0,32
Über- stand	8,31 ± 1,29	10,72 ± 1,21	46,94 ± 4,03	53,27 ± 10,58	0,44 ± 0,13	0,49 ± 0,12
Summe	14,68 ± 5,32	15,81 ± 3,87	62,94 ± 11,68	61,10 ± 4,77	0,75 ± 0,14	0,78 ± 0,21

Tabelle 8 nach Schwartz et al. (1966)

T A B E L L E 9 n a c h S c h w a r t z e t . a l . (1 9 6 6)

Kernge- wichts- fraktion	Arylsulfatase		saure Phosphatase		saure Ribonuklease	
	Kontroll- gruppe	EDTA- gruppe	Kontroll- gruppe	EDTA- gruppe	Kontroll- gruppe	EDTA- gruppe
300	37,74 ± 4,28	23,71 ± 6,77	85,83 ± 10,07	45,68 ± 8,00	2,01 ± 0,21	1,72 ± 0,19
650	40,16 ± 6,13	18,87 ± 3,14	98,26 ± 6,10	48,21 ± 6,50	1,64 ± 0,18	1,41 ± 0,11
5000	27,25 ± 4,05	14,52 ± 3,63	86,99 ± 5,93	49,82 ± 5,41	1,22 ± 0,11	1,16 ± 0,22
15000	20,64 ± 4,33	18,71 ± 5,00	67,54 ± 1,73	51,43 ± 3,91	0,63 ± 0,11	0,73 ± 0,26
150000	11,29 ± 6,75	7,90 ± 7,10	69,61 ± 4,77	61,44 ± 3,16	0,89 ± 0,18	1,27 ± 0,25
Über- stand	6,93 ± 0,72	6,45 ± 0,57	51,89 ± 6,17	26,34 ± 9,41	0,47 ± 0,10	0,64 ± 0,20
Summe	16,77 ± 1,53	11,29 ± 1,29	67,31 ± 10,24	39,58 ± 7,18	0,89 ± 0,11	0,95 ± 0,14

Tabelle 8 nach Schwartz et al. (1966)

pathologische und histochemische Veränderungen sind eng miteinander verknüpft und beide Ausdruck der Schädigung der Niere durch Chelate.

c) Der Nachweis der Interaktion von morphologischen und chemischen Vorgängen stellt einen wichtigen Schritt in der Aufklärung der Toxizität der Chelate dar. Aus diesem Grund sei auf einige weitere Versuche, die sich mit dieser Problematik beschäftigen, eingegangen: Ähnliche Untersuchungen wie die von Schwartz et al (1970, 1967, 1966) führte Conyers mit seinen Mitarbeitern (1967) über die alkalische Phosphatase des menschlichen Knochens, des Intestinums und der Placenta durch. Sie zeigen, daß EDTA vor allem 3 Wirkungen auf diese Phosphatase ausübt:

- 1.) Bei einem Überschuß an Substrat verursachen geringe Konzentrationen von EDTA (10^{-5} - 10^{-3} Mol) einen Abfall der Phosphataseaktivität, unabhängig von Variationen der EDTA-Konzentration im genannten Bereich. Die Knochenphosphatase verlor dabei in vier Experimenten im Durchschnitt 18,5% ihrer ursprünglichen Aktivität, die Placentaphosphatase in sieben Experimenten 15,3% und die Phosphatase des Intestinums in fünf Versuchen durchschnittlich 6,6% der anfänglich gemessenen Aktivität.
- 2.) Über 10^{-3} Mol zeigen Knochen- und Intestinalphosphatase einen Verlust an Aktivität, der direkt proportional zur Konzentration von EDTA ist. Bei 10^{-1} Mol EDTA wiesen die Phosphatase des Intestinums noch 45%, und die des Knochens noch 30% der ursprünglichen Aktivität auf.
- 3.) Präinkubation der Phosphatasen mit EDTA resultiert in einer zeit-, temperatur- und pH-Wert-abhängigen Inaktivierung, die auch durch Verdünnung nicht rückgängig zu machen ist.

Nach Conyers (1967) ist der erste Effekt auf die Verunreinigung der verwendeten Enzyme und Reagentien durch einen Aktivator zurückzuführen. Roche (1950), Morton (1955) und Clark und Porteous (1965) konnten nachweisen, daß solche Verunreinigungen besonders leicht durch

Metalle hervorgerufen werden können.

Den zweiten Befund erklärt Conyers durch die Chelation eines zweiwertigen Kations, notwendig für die Aktivität der Enzyme, während Mathies und Wallach (1964) eine direkte Beeinflussung der Enzyme durch das Chelat für wahrscheinlich halten.

Der dritte Effekt ist laut Conyers durch die Entfernung eines essentiellen Metalles (wahrscheinlich Zink) durch EDTA bedingt. Seine Versuche klären jedoch nicht, ob EDTA das Metall in situ bindet und so langsam Konformationsänderungen in der Proteinstruktur hervorruft, oder ob das Metall sofort entfernt und so ein instabiles Enzym zurückgelassen wird, das daraufhin denaturiert. Nach Agus et al. (1966) ist eher letzteres der Fall.

d) Pontremoli und seine Mitarbeiter (1973) untersuchten die Aktivierung des Enzyms Fruktosediphosphatase durch Mg-EDTA, Mn-EDTA und Co-EDTA an der Kaninchenniere: Die renale Fruktose-1,6-diphosphatase-Aktivität ist bei neutralem oder alkalischem pH-Wertbereich abhängig von der Existenz eines zweiwertigen Kations. Arbeiten von Mc Gilvery und Mokrasch zeigten (1956), daß es sich dabei um Mg^{++} oder um Mn^{++} handelt. Letzteres kann bei geringen Konzentrationen Mg^{++} ersetzen, tritt bei hohen Konzentrationen jedoch als Inhibitor auf. Nach Mc Gilvery (1964) kann die Fruktosediphosphatase der Leber ebenfalls durch Co^{++} aktiviert werden.

Die in diesem Zusammenhang wichtigsten Ergebnisse von Pontremoli sind:

Beim Vorhandensein von EDTA konnte das Enzym nur dann aktiviert werden, wenn die Konzentration des zweiwertigen Kations Mn^{++} die des Chelates bei weitem überstieg. Andernfalls war keine Enzymaktivität nachzuweisen. In diesem Zusammenhang sei noch einmal auf die hohe Komplexbildungskonstante für Mn (II)-EDTA hingewiesen (siehe Einleitung).

Die Ergebnisse zeigen, daß Mn-EDTA das Enzym nur in Anwesenheit von freien Mn^{++} aktiviert. Es kann daher ge-

geschlossen werden, daß bei Überschuß von Mn^{++} alles EDTA als $Mn(II)$ -EDTA vorliegt. Der Einfluß von EDTA ist in Abbildung 7 dargestellt.

Abbildung 7 nach Pontremoli und Mitarbeiter (1973) zeigt den Effekt von verschiedenen EDTA-Konzentrationen auf Mn^{++} aktivierte Fruktosediphosphataseaktivität bei einem pH-Wert von 6,5. Die Aktivitätsänderungen wurden spektrophotometrisch durch TPN-Reduktion bei 340 nm ermittelt. Die Einheit der Fruktosediphosphataseaktivität ist definiert als die Menge, die benötigt wird, um die Hydrolyse von 1 Mol Fruktose-1,6-diphosphat min bei 25°C zu katalysieren. Als spezifische Aktivität wird die Anzahl der Einheiten/mg Protein bezeichnet.

Die Experimente von Pontremoli et al. (1973) machen deutlich, daß den Spurenelementen bei der Analyse der Toxizität der Chelate eine grundlegende Bedeutung zukommt.

e) Der Einfluß von EDTA ist nicht nur auf das Enzymsystem der Niere beschränkt, vielmehr zeigen Untersuchungen von Ishmael et al. (1971), Fiedler (1968), Stoosmeyer et al (1964) und Buntrock und Triebel (1971), daß eine große Reihe von klinisch-chemischen Parametern des Serums und vor allem auch die Leber schwerwiegenden Veränderungen unterworfen sind.

Ishmael und Mitarbeiter (1971) gaben 12 Mäusen mit normalem Kupferstatus und einem Gewicht von 19-21 kg subkutane Injektionen von Cu-EDTA in einem Dosierungsreih von 1,6-9,0 mg Cu/kg und Tag. Bei allen Tieren verzeichneten sie ein Ansteigen des Blut- und Gewebekupferlevels kurz nach der Injektion. Eine Lebertoxizität der überlebenden Tiere ergab folgendes Bild:

Zentrilobuläre Lebernekrose in Verbindung mit einem Abfall der Succinat- und Glutamatdehydrogenaseaktivität sowie der ATPase-Aktivität.

Im Serum ist ein starker Anstieg der Glutamatdehydrogenase, der Glutamattransaminase, der Aspartat- und der Glutamat-

Laktat-Transaminase nach Verabreichung von CuSO_4 zu beobachten. Die Tiere litten zudem unter einer Hämolyse und Nephrophilie, subendocardialen Hämor-
rhagien, Lungenschwellen und Kongestion der Niere. Bei
allen Tieren waren die Enzymveränderungen statistisch
signifikant, bis auf diejenige der Sorbit-Dehydro-
genase jedoch reversibel.

Auf Grund des raschen Anstieges der Serumkupferwerte
kurz nach Injektion schlossen Lehmann und Mitarbeiter
(1971), daß freies Kupfer, welches aus dem Komplex be-
freit wurde, für die beobachteten Veränderungen ver-
antwortlich ist. Hinsichtlich den Enzymaktivitäten
kommt damit der Spurenelementen bei Gaben von EDTA
eine doppelte Bedeutung zu:

Im einen scheint EDTA Metallelementen unspezifisch un-
entbehrliche Spurenelemente entziehen zu können, zum
anderen scheint es durch Anheftung von Metallen Enzymen
gegenüber als Inhibitor auftreten zu können.

Dieses Verhalten des Chelates ist zwar an der Niere
am stärksten ausgeprägt, betrifft jedoch - wie gezeigt -
auch die anderen Organe, und steht damit in Einklang
mit dem Symptomen. Die allgemein bei Chelatvergiftung
berichtet werden.

Der Einfluß des Chelates auf Enzyme ist auch von
Fiedler (1969) ausführlich beschrieben worden:

Nach intravenöser Verabreichung von Cu-EDTA in einer
Dosis von 10 mg/kg an Kaninchen (Gewicht: 2-3 kg) kam
es zu einer starken Vermehrung verschiedener Plasma-
enzyme. Fiedler konnte ein Ansteigen der Aktivitäten
der Alanin- und Aspartat-Amino-Transferase, der Glu-
tamat-, Sorbit- und Laktat-Dehydrogenase sowie der
Fructosebiphosphatase im Plasma auf das 20-250 fache
des Ausgangswertes beobachten. Die Konzentration des
Serumkaliums stieg an, während die des Calciums ab-
fiel. Der Serumströmungspegel blieb unverändert.

Auch Fiedler hält einen Einfluß des Cu-EDTA auf metall-

abhängige Enzymsysteme durch Ausscheidung wichtiger Spurenelemente für wahrscheinlich, gibt jedoch auch gleichzeitig zu bedenken, daß dann die Toxizität der Chelate von der Stabilitätskonstante abhängig wäre. Das bedeutet, daß die Toxizität der Metallchelate mit hoher Stabilitätskonstante niedriger wäre als derjenigen mit niedriger Stabilitätskonstante (die Werte der einzelnen Stabilitätskonstanten sind in der Einleitung aufgeführt).

Die Toxizität der Zn- und Co-Chelate der Äthylendiamintetraessigsäure ist auch tatsächlich gegenüber dem Ca-Chelat herabgesetzt, wie Arbeiten von Cremona et al. (1962) sowie Sullivan (1960) und Catsch (1964) gezeigt haben. Dagegen ist die Toxizität von Cu-EDTA und Pb-EDTA unerwartet hoch. Dies haben die oben genannten Arbeiten und Untersuchungen von Bauer und Mitarbeiter (1967) ergeben.

Zudem gibt zu Bedenken Anlaß, daß die Toxizität der DTPA nur etwa zweimal höher ist als die der EDTA (siehe dazu Kapitel II), obwohl nach Catsch (1964) DTPA gegenüber EDTA etwa die hundertfache Metallmenge aus dem Körper entfernt.

Vor allem der hohe Serumspegel organspezifischer Enzyme wie der Glutamat-Dehydrogenase (Mitochondrien) und der Sorbit-Dehydrogenase (Leber) spricht eher für eine direkte Einwirkung der Chelate auf die Organzellen.

Im folgenden Kapitel soll daher das Ausmaß und die Wirkungsweise der Chelate auf die Spurenelemente untersucht werden.

V DIE BEDEUTUNG DER SPURENELEMENTE - MENTE BEI DER CHELATOXIZITÄT

a) Zur Verifizierung der Hypothese, daß die toxischen Nebenwirkungen von Chelatbildnern auf ihrer Wechselwirkung mit essentiellen Spurenelementen beruhen, sind quantitative Untersuchungen erforderlich, die sich mit der Ausscheidung entsprechender Metalle in Abhängigkeit von Dosis und Art der Chelatbildner befassen:

EISEN: Die Wirkung der Äthylendiamintetraessigsäure auf den Eisenstoffwechsel ist von Friedel et al. (1967) an Patienten innerer Abteilungen und an Normalpersonen verschiedenen Alters untersucht worden.

Nach intravenöser Injektion von 15 ml Kalzium-Weiß (nach Angaben der Herstellerfirma handelt es sich dabei um eine wässrige Lösung von 0,92% Dicalcium- und 8,415% Calcium-Dinatriumsalz der EDTA) nahm die Eisenausscheidung im Urin bei allen Probanden zu. Bei Patienten mit normalen Serumeisenspiegel konnte dabei eine höhere Ausscheidung beobachtet werden als bei Patienten mit vorher verminderten Serumeisenspiegel. Eine zweite Injektion führte bei Personen mit erniedrigtem Serumeisenspiegel zu einer weiteren Ausscheidung, bei normalen Personen jedoch nicht. Insgesamt war die ausgeschiedene Eisenmenge nach Abschluß des Versuches in beiden Probandengruppen in etwa gleich.

Unter der EDTA-Einwirkung kam es zu einem Anstieg des Serumeisenspiegels, der auch dann anhielt, als das gesamte EDTA bereits ausgeschieden worden war.

Abbildung Nr. 8 nach Friedel et al. (1967) zeigt den Verlauf des Serumeisenspiegels und der Urinausscheidung nach einer einmaligen Injektion von 15 ml Kalzium-Weiß über einen Zeitraum von 9 Stunden

Die Frage nach der Ursache der limitierten Harnfähigkeit des Eisens sowie der Diskrepanz zwischen der Höhe des Serumeisenspiegels und der Ausscheidung des Eisens

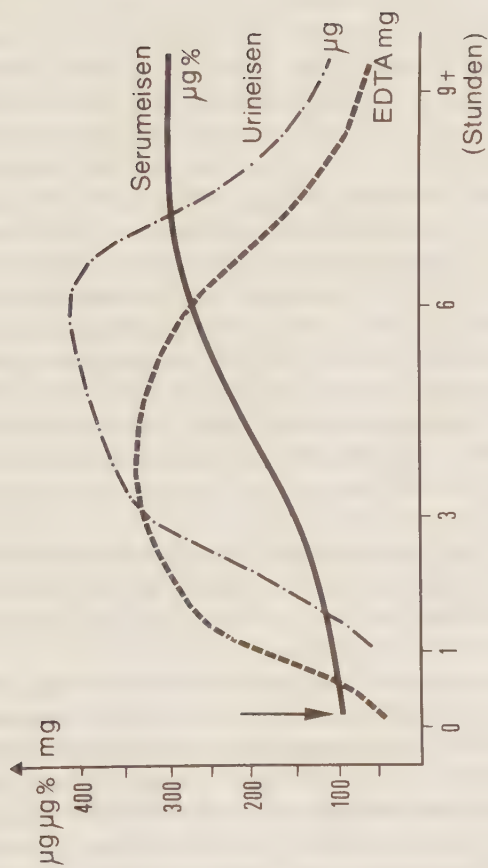


Abbildung 8 nach Friedel et al. (1967)

im Urin beantwortet Friedel mit folgendem Lösungsmodell:

Bei dem Serumspiegel von Eisen kann es sich nur um an Transferrin gebundenes Eisen handeln, das nach intravenöser EDTA Gabe vermehrt im Blut kreist. Vitroversuche von Friedel und Mitarbeiter ergaben, daß EDTA mit dem Transferrin um das Eisen konkurriert, wobei das Gleichgewicht mehr zum Transferrin verschoben ist, das heißt, eine völlige Loslösung des Eisens vom Transferrin durch das Chelat ist nicht möglich. Die Entfernung des Eisens ist wiederum durch die Stabilitätskonstante des Komplexbildners bedingt und kann nach Mazur (1966) nur beim Übergang vom Transferrin auf das Leberferritin stattfinden. Dabei wird unter aeroben Bedingungen dreiwertiges Eisen vom Transferrin gelöst, mittels eines Redoxsystems unter Beteiligung von Ascorbinsäure zur zweiwertigen Form reduziert, die durch ATP gebunden dem Leberferritin zugeführt wird. EDTA ist nun in der Lage, an Stelle des ATP Eisen zu binden und eine Weitergabe des Fe(III) an das Leberferritin zu unterbinden. Dadurch wird das dreiwertige Eisen harnfähig.

Wie Hösl (1960) zeigte, ist bei dieser Reaktion eine Umwandlung von Fe(III) zu Fe(II) nicht nötig, da der Fe(III) -EDTA-Komplex fester als der Fe(II) -EDTA-Komplex ist.

Wie bereits erwähnt ist die Ablösung des Eisens vom Transferrin nur bis zu einer gewissen Grenzkonzentration möglich. Sutton und Bowmann (1964) führen diese Erscheinung darauf zurück, daß die verschiedenartigen Transferrine eine unterschiedliche Affinität zu Eisen haben. Nach Friedel et al. ist dies jedoch darin begründet, daß es infolge der Tertiärstruktur der Eiweißkörper und der damit verbundenen charakteristischen Faltung am Transferrin Bindungsstellen gibt, die dem EDTA-Molekül nicht zugänglich sind. Das würde bedeuten, daß der Einfluß der Chelate auf Spurenelemente und

essentielle Metalle unter anderem auch von der Ladung und der Größe des Komplexbildners abhängig ist. Diese Vorstellung könnte auch erklären, warum zum Beispiel Ca-EDTA stärker befähigt ist, Eisen vom Transferrin zu übernehmen als $\text{Na}_2\text{H}_2\text{-EDTA}$. Beide Verbindungen zeigen nicht nur Struktur-, sondern auch Ladungsunterschiede. Es ist denkbar, daß das durch die komplexe Ca-Bindung weniger geladene und stärker abgerundete Molekül des Komplexbildners in der Lage ist, noch Eisenbindungsstellen des Transferrinmoleküls zu erreichen, die dem stärker geladenen und auch gestreckterem Molekül der $\text{Na}_2\text{H}_2\text{-EDTA}$ nicht zugänglich sind.

Bei dem mit dem Urin ausgeschiedenen Eisen handelt es sich - wie gezeigt - ausschließlich um Transferrineisen, das durch EDTA harnfähig gemacht wurde. Ein unmittelbarer Angriff der Chelate am Gewebeeisen, wie ursprünglich von Wöhler und Heilmeyer (1963) angenommen, liegt demnach nicht vor. Die Tatsache, daß der Serumeisenspiegel trotz der relativ raschen Ausscheidung von EDTA erhöht bleibt, legt den Schluß nahe, daß es auf Grund eines biologischen Gleichgewichtes zu einer Verschiebung des Gewebeeisens ins Serum kommt, um das ausgeschiedene Transferritineisen wieder aufzufüllen. Die Versuche von Friedel et al. (1967) machen deutlich, daß eine Beeinflussung des Eisenhaushaltes durch Chelate erfolgt. Ob dieser Beeinflussung hinsichtlich der Toxizität der Chelate bei gesunden Personen eine Bedeutung zukommt, vermag beim heutigen Stand der Diskussion noch nicht restlos geklärt werden.

So stellten Reinhold und Holzapfel (1967), die zwei Probandengruppen täglich peroral 2g Mosatil verabreichten, keine statistisch signifikante Veränderung des Serumeisenspiegels fest.

Sicher ist jedoch, daß eine längere Applikation der Chelate bei Patienten mit Eisenmangel toxisch ist und zu einer weiteren Verarmung des Mineralhaushaltes führt, wie Figuerowa et al. (1954), Rieders (1955) und Rotta und Mitarbeiter nachweisen konnten.

b) Zink: Der Wechselwirkung zwischen Zink und EDTA und verwandten Chelaten scheint in Hinblick auf die Toxizität der Chelate eine pathogenetische Bedeutung zuzukommen. So stellten bereits kurz nach Einführung der Chelate in die Therapie Candura und Mitarbeiter (1960), Millar et al. (1954), Perry und Perry (1959), Tarui (1960) und Teisinger et al. (1958) fest, daß EDTA die Ausscheidung von Zink mit dem Urin stark erhöht, diejenige einer Reihe anderer Spurenelemente jedoch kaum beeinflußt.

Havlicek (1967) untersuchte die Ausscheidung von Zn und Zn^{65} an Rattenweibchen des Heiligenbergstammes (Gewicht: 200-260 g) nach Injektion von $CaNa_2$ -EDTA, $CaNa_3$ -DTPA und Na_3Zn -DTPA in verschiedenen Dosen. Den Tieren wurde vor jedem Versuch 0,5 ml trägerfreies $^{65}ZnCl_2$ in die Schwanzvene injiziert, wobei die Aktivität nach Maßgabe der Versuchsanordnung 5-15 Ci pro Tier betrug.

Havlicek konnte folgendes feststellen:

Die Ausscheidung von Zink ist dosisabhängig. Proportional zur wachsenden Chelatdosis nimmt die Ausscheidung von Zn und Zn^{65} im Urin zu, wobei bei gleicher Molarität DTPA wirksamer ist als EDTA. Das Ausscheidungsverhältnis von DTPA und EDTA beträgt 100 zu 1, und steht damit in guter Übereinstimmung zu den Ergebnissen von Catsch (1964). Die Versuche zeigen, daß die Gabe von Calciumchelaten zu einer kurzdauernden Verarmung des Organismus an Zink führen. Nach Havlicek wird dabei das Zink vor allem aus dem extrazellulären Raum, zu einem Teil aber auch aus dem intrazellulären Raum mobilisiert und mit dem Urin ausgeschieden, während die fäkale Ausscheidung demgegenüber äußerst gering ist. Die Behauptung, daß auch endogenes Zink zur Mobilisation kommt, ist für die Toxizität der Chelate von großer Bedeutung. An Hand der schematischen Darstellung des endogenen Zinkpools nach Havlicek (1967) läßt sich diese Vorstellung erklären. Die in Abbildung Nr. 9 verwendeten Abkürzungen bedeuten dabei im einzelnen:

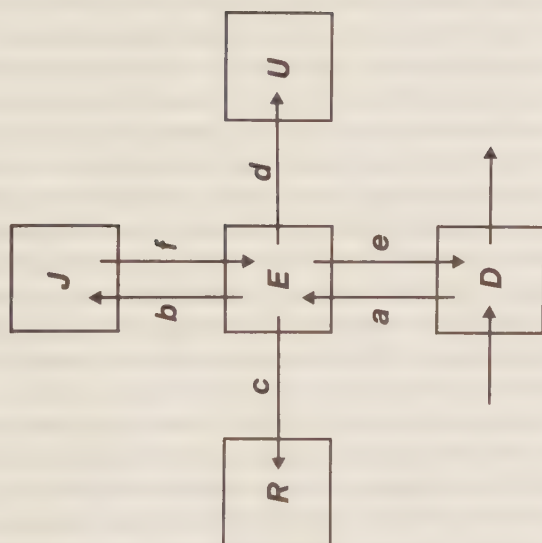


Abbildung 9 nach Havlicek (1967)

D = Darm, E = Extrazellulärer Raum, I = Intrazellulärer Raum, R = Knochen, Haare und ähnliches, U = Urin. Die einzelnen Transferraten zwischen den jeweiligen Räumen sind durch kleine Buchstaben wiedergegeben.

Der Zinkpool des Säugetierorganismus kann in erster Näherung als ein offenes System aus mehreren Kompartimenten aufgefaßt werden:

Aus dem Darm (D) wird ein bestimmter Bruchteil des in der Nahrung enthaltenen Zink resorbiert und gelangt zunächst in das zentrale Kompartiment des extrazellulären Raumes (E), in dem es praktisch vollständig durch Plasmaproteine gebunden ist. Ein Teil des in E enthaltenen Zink wird mit dem Urin und in den Darm ausgeschieden. Da für den Zinkpool im nicht wachsenden Organismus ein Steady-State anzunehmen ist, muß $a = e$ und $a = d + e$ sein. Aus dem gleichen Grunde sollte der Zinktransfer zwischen E und dem intrazellulären Raum I in beiden Richtungen mit gleicher Schnelligkeit erfolgen, das heißt, $b = f$ sein. Ursächlich liegen diesem Transfer isotopischer Austausch sowie Synthese und Abbau zinkhaltiger zellulärer Bestandteile (vornehmlich von Enzymen) zugrunde. I ist ein heterogenes Kompartiment und sollte an sich in weitere Kompartimente unterteilt werden. Die Untersuchungen von Ballou und Thompson (1961), Gilbert und Taler (1956) und Taylor (1961) zeigen schließlich, daß Zink⁶⁵ in bestimmte, in diesem Modell mit R bezeichnete Gewebe (Knochen, Haare) abgelagert und aus diesen nur extrem langsam eliminiert wird. Der rückläufige Transfer von R nach E ist deshalb in Abbildung Nr. 9 auch unberücksichtigt geblieben.

Die Analyse der Zinkausscheidung hat zweckmäßigerweise von den sogenannten Effektivitätskonstanten E auszugehen. Die Größe von E hängt von der Chelatdosis, den Stabilitätskonstanten der Zink- und Calciumchelate und vom pH-Wert ab. Bei der Berechnung von E verwendete Havlicek (1967) die in der Einleitung, Abschnitt e genannten Stabilitätskonstanten; es wurde ein pH-Wert von 7,4 und die Ca^{++} Konzentration im Plasma mit 10^{-3} molar angenommen.

Die Versuche von Havlicek (1967) zeigen, daß nach Verabfolgung von 1 mol DTPA rund 0,6 mol Zink ausgeschieden werden. Dieser Prozentsatz (60%) nimmt jedoch mit wachsender Chelatdosis stark ab und beträgt bei 100 mol DTPA nur noch 1,5%, das heißt, die in E grundsätzlich mobilisierbare Menge an Zink ist limitiert und relativ klein. Da eine Mobilisierung des Zink aus R definitionsgemäß ausgeschlossen ist und Ca-EDTA andererseits - wie Bohne und Mitarbeiter nachweisen konnten (1967) - die enterale Resorption von Zink nicht erhöht, folgert Havlicek, daß das mobilisierte Zink auf Grund des gestörten Gleichgewichtes E-I nicht nur aus E, sondern auch aus I stammt. Ähnlich wie bei der Beladung des Transferrins mit Eisen aus dem Gewebe, kommt es hier also zu einer Verschiebung des Zink vom I-Pool zum E-Pool auf Grund eines gestörten Gleichgewichtes. Dadurch ist eine echte Mobilisierung von endogenen Zink durch Chelatbildner möglich.

Endogenes Zink ist ein wichtiger Bestandteil vieler Enzyme (Carbonanhydrasen, Dehydrogenasen, Carboxypeptidasen) und damit von außerordentlicher Bedeutung für die Funktion des Organismus. Die Verarmung des Organismus an Zink durch Chelate ist daher ein primäres und diskretes Zeichen für die Toxizität der Komplexbildner. Auf die vermehrte Ausscheidung von Zink durch Chelate wird auch von Duric und Mitarbeiter (1969) warnend aufmerksam gemacht. Duric et al. führte bei 51 Arbeitern, von denen 43 unter einer starken und 8 unter einer schwächeren Bleiintoxikation litten, eine Mosatiltherapie durch. Bei Patienten mit Anzeichen von schwerer Bleiintoxikation wurde im Urin wesentlich mehr Zink ausgeschieden als bei Patienten mit geringeren Intoxikationssymptomen. Dennoch war auch bei letzteren die Zinkausscheidung erhöht. Die Zinkausscheidung war insgesamt pro Patient limitiert (oberste Grenze: 41,523 µg), da ab einer bestimmten Grenze auch bei höherer Dosierung des Chelates kein weiteres Zink mobilisiert werden

konnte. Innerhalb dieser Grenze ist die Zinkausscheidung jedoch vom Ausmaß der Bleibeladung der Probanden abhängig. Der kausale Zusammenhang dafür ist bisher ungeklärt und bedarf weiterer Forschung. Auf der Basis der von Duric et al. (1969) erzielten Ergebnisse ist jedoch ersichtlich, daß EDTA-Applikation eine Verarmung des Organismus an Zink hervorruft, die besonders bei Bleiintoxikationen, bei denen die Chelate ja das Mittel der Wahl darstellen, in Betracht gezogen werden sollte.

c) MANGAN: Nadolny (1971) untersuchte den Einfluß der Calciumchelate EDTA, DTPA und CDTA (Trans-cyclohexan-1,2-diamintetraacetat) im Dosisbereich von 0,0625-8,0 mmol/kg Körpergewicht auf die renale Ausscheidung von Mangan bei Rattenmännchen des Heiligenberg-Inzuchtstammes (Körpergewicht 190-230g). Den Versuchen von Nadolny ist zu entnehmen, daß bereits niedrigste Chelatdosen die Manganausscheidung über den Urin erhöhen. Dabei nimmt die Wirksamkeit der Chelate in Bezug auf die Ausscheidung von EDTA über CDTA nach DTPA zu. Doppelt logarithmisches Auftragen der Ausscheidungswerte und der relativen Dosen (definiert als das Verhältnis gleichwirksamer Dosen der einzelnen Chelate) zeigt einen linearen Kurvenverlauf.

Abbildung Nr. 10 zeigt die Abhängigkeit der Manganausscheidung von der Chelatdosis bei verschiedenen Chelaten und gibt den linearen Kurvenverlauf wieder.

Hinsichtlich der Ausscheidung von Mangan liegt also sowohl für EDTA und DTPA als auch für CDTA eine Dosisabhängigkeit vor. Höhere Chelatdosen bringen vermehrt Mangan im Urin zur Ausscheidung. Werden die relativen Dosen der Chelate verwendet, so ist die Manganausscheidung direkt proportional zu der relativen Dosis.

Die relative Dosis, das heißt die gleichwirksame Dosis, beträgt für CDTA bezogen auf EDTA einen 2,56fachen Wert der Nominaldosis von EDTA und für DTPA einen 5,91fachen Wert der EDTA-Dosis, wobei der Wert für DTPA ab 1 mmol/kg kleiner und mit CDTA identisch wird.

In einer zweiten Versuchsreihe wurden von Nadolny (1971)

Ratten des oben genannten Stammes an 4 aufeinanderfolgenden Tagen DTPA in der toxischen Dosis von 2 mmol/kg und Tag injiziert. Während des Versuches nahm die Manganausscheidung progredient ab und war am 4. Tag mit der der Kontrolltiere weitgehend identisch. Dieser Befund weist darauf hin, daß die durch den Chelatbildner mobilisierbare Fraktion des Manganpools beschränkt ist und legt gleichzeitig wieder den Schluß nahe, daß es neben der Mobilisierung von Mangan aus dem extrazellulären Pool auch zu einer Mobilisierung von intrazellulärem Mangan kommt. Dies ist auf zwei Wegen möglich:

Zum einen durch Eindringen einer kleinen Fraktion des Chelates in den Intrazellularraum, zum anderen durch stark Chelierung von extrazellulärem Mangan und der damit verbundenen Störung des Gleichgewichtes - wenn die Geschwindigkeit mit der das Mangan aus dem intrazellulären in den extrazellulären Raum gelangt groß ist im Vergleich zu der Ausscheidungsgeschwindigkeit des Chelatbildners.

Weitere Untersuchungen von Nadolny (1971) mit trägerfreien $^{54}\text{MnCl}_2$ in einer Aktivität von 10 Ci pro Tier zeigen, daß DTPA in einer Dosis von 2 mmol/kg die Mangan 54 -Ausscheidung mit dem Urin um einen Faktor von 600, die des nichtradioaktiven Mangan dagegen nur auf das 12fache erhöht. Dies bedeutet, daß DTPA Mangan aus einer Fraktion des Manganpools mobilisiert, deren spezifische Aktivität (Verhältnis von Mn/Mn^{54}) etwa 50mal höher ist als in derjenigen Fraktion, aus der normalerweise Mangan ausgeschieden wird. Das Mangan der Gewebe hat jedoch, wie ein Vergleich der Konzentrationen von Mn und Mn^{54} ergibt, eine wesentlich höhere spezifische Aktivität als das Mangan im extrazellulären Kompartiment. Die niedrige spezifische Aktivität des spontan ausgeschiedenen Mangan zeigt also, daß das aus dem intrazellulären Kompartiment stammende Mn^{54} in starkem Maße durch enteral resorbiertes Mangan ver-

dünnt wird; das bedeutet jedoch auch, daß der hohe Mangangehalt des Urins nicht nur auf einer Umschaltung der Ausscheidungswege (erniedrigte fäkale Ausscheidung) beruhen kann, sondern auf einer Manganverarmung der Organe und hier insbesondere des Darmes.

Tabelle Nr. 10 nach Nadolny (1971) zeigt den Mangan-gehalt einiger Organe von 6 Rattenmännchen des Heiligenberg-Inzuchtstammes (Körpergewicht: 190-230g) nach Injektion von 4 DTPA-Dosen (2 mmol/kg und Tag und Dosis). Angegeben sind die Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung. Die Kontrollgruppe erhielt isotone NaCl-Injektionen.

Die Ergebnisse Nadolnys rechtfertigen die Ansicht, daß ein wesentlicher Grund für die Toxizität der Chelate im direkten Einfluß der Polyaminopolycarbonsäuren auf den Mineralhaushalt zu sehen ist. Dieser direkte Einfluß konnte - wie gezeigt - durch entsprechende Versuchsbedingungen und den sich daraus ergebenden Überlegungen von verschiedenen Autoren (Friedel et al. (1967), Havlicek (1967), Duric et al. (1969), Nadolny (1971)) für die Spurenelemente Mangan, Eisen und Zink belegt werden. Er besteht in einer Aktivierung und Verringerung des endogenen Pools dieser Spurenelemente. Die Spurenelemente nehmen damit eine Schlüsselstellung in der Problematik der Chelattoxizität ein, da sie einerseits als Coenzyme eine Vielzahl biochemischer Vorgänge steuern und damit ein Bindeglied zwischen zwei Aspekten der Chelattoxizität darstellen (indem sie histopathologische- und biochemische Vorgänge miteinander verknüpfen), andererseits jedoch auch der richtige Gehalt an Spurenelementen im menschlichen Körper für sich allein als Faktor eines gesunden Organismus anzusehen ist. Der Gehalt an essentiellen Metallen im Körper reagiert ja auf jegliche Beeinflussung äußerst empfindlich und stellt deshalb einen wichtigen Indikator für die Beurteilung der Chelattoxizität dar.

Die Ätiologie der Toxizität der Chelatbildner ist da-

TABELLE 10 nach Nadolny (1971)

Organ	DTPA	NaCl
Skelett	$4,62 \pm 0,13$	$6,54 \pm 0,21$
Leber	$6,69 \pm 0,36$	$15,30 \pm 1,09$
Nieren	$1,78 \pm 0,20$	$2,44 \pm 0,09$
Dünndarm	$1,66 \pm 0,26$	$8,17 \pm 0,52$

Tabelle 10 nach Nadolny (1971)

mit von mehreren Seiten her aufgezeigt worden und sei hiermit zum Abschluß gebracht. Freilich kann eine Arbeit, die sich mit einem toxikologischen Problem beschäftigt, nicht zum Abschluß gebracht werden ohne die Problematik der therapeutischen Breite und der Indikationsstellung des Agens behandelt zu haben.

VI. INDIKATIONSSTELLUNG UND THERAPEUTISCHE BREITE DER CHELATE

a) Chelate finden bei einer großen Reihe von verschiedenen Erkrankungen Einsatz, von denen Metzler (1961) und Chenoweth (1968) die wichtigsten zusammengestellt haben:

Als hilfreich hat sich die Chelattherapie erwiesen bei der Wilson-Erkrankung, bei Sarkoidosen, bei Porphyrien, bei Eisenspeicherkrankheiten, bei ossifizierender Myositis, bei arteriellen Koronarerkrankungen, bei zerebraler und peripherer Arteriosklerose und bei der Behandlung von Schwermetallvergiftungen. Daneben finden die Chelate nach Neilands (1973) bei radioaktiver Verseuchung als Antidote Verwendung und die jüngste Diskussion über die Kernkraft scheint ihren Indikationsbereich als Inkorporatoren von Radionukleiden nur noch zu erweitern. Von allen oben angeführten Krankheiten machen jedoch die Schwermetallvergiftungen - und hier im besonderen der Bleimobilisationstest - bei weitem den größten Anteil der Indikationsstellungen aus.

An Hand des Bleiprovokationstestes soll daher stellvertretend für alle anderen Indikationsstellungen der Chelate das Problem einer vertretbaren therapeutischen Dosierung erörtert werden.

b) Der Bleiprovokationstest mit Calcium-EDTA ist keine neue diagnostische Möglichkeit zur Erkennung eines erhöhten Bleidepots. Bereits 1958 beschreibt ihn Unsel (1958). Er wird folgendermaßen durchgeführt:

Zunächst Bleibestimmung im Blut und im 3-Tage-Sammelurin, dann 3 Tage lang täglich eine Ampulle

Mosatil (entspricht 1,2 g $\text{CaNa}_2\text{-EDTA}$ /Tag) oder ein anderes vergleichbares Präparat (siehe Einleitung) intravenös; währenddessen erneut Harn sammeln und auf Bleigehalt untersuchen. Daneben ist ein Bleimobilisationstest von 2- oder sogar nur 1-tägiger Dauer möglich.

Chisolm (1970) empfiehlt den Bleimobilisationstest zu diagnostischen Zwecken bei Kindern und gibt ihn in der folgenden Weise an:

Dosierung: 25 mg/kg bis zu einer Maximaldosis von 1g.

Anwendung: Gabe einer einmaligen intramuskulären Injektion oder intravenösen Infusion (0,5%ig) über den Zeitraum von einer halben Stunde. Anschließend wird der Urin quantitativ über 24 Stunden gesammelt.

Teisinger (1971) berichtet über gute Erfahrungen mit dem Provokationstest und empfiehlt zur Klärung der Diagnose einer Bleibestimmung eine einmalige intravenöse Injektion von 10 ml einer 20%igen Lösung von Calcium-EDTA (entspricht 2g Calcium-EDTA)

Auch Krienke empfiehlt eine einmalige Gabe von 15-20 mg Calcium-EDTA/kg, maximal 50mg/kg über 1-2 Stunden als Infusion 0,2-0,5%ig intravenös zu geben, um eine Metallbelastung zu diagnostizieren.

Calcium-EDTA wird jedoch nicht nur im Bleimobilisationstest diagnostisch zur Erkennung einer überhöhten Bleilast eingesetzt, es ist vielmehr auch ein Medikament zur Behandlung einer diagnostizierten Bleivergiftung: Bereits kurz nach Einführung der Calciumchelate in die Therapie der Schwermetallvergiftungen wurde über ernsthafte Nebenwirkungen berichtet. Neben einzelnen Todesfällen wurden vor allem schwere Nierenveränderungen erwähnt. In der Einleitung sowie in den ersten beiden Kapiteln dieser Arbeit wurden diese Todesfälle und die Nierenalterationen beschrieben. Die damals zur Therapie verwendeten Dosen waren relativ hoch. In dem von Vogt und Cottier (1957) genannten Todesfall (siehe Einleitung, Abschnitt f) war das Calciumver-

senat zum Beispiel in einer Dosis von 600 mg/kg und Tag appliziert worden. Auch bei der damals üblichen Dosierung von 4g/Tag wurden tödlich verlaufende Nephrosen beschrieben, wie der von Moeschlin et al. (1957) berichtete Fall (siehe Einleitung, Abschnitt f) zeigt.

Diese Erfahrungen werden heute bei den Richtlinien zur Behandlung von Schwermetallvergiftungen mit EDTA berücksichtigt.

c) Es wird angenommen, daß die sichere Höchstdosis für Calcium-EDTA beim Menschen 75 mg/kg Körpergewicht pro 24 Stunden beträgt. Diese Dosis sollte jedoch nach Chisolm (1970) nur für die schwersten Fälle angewandt werden, da sie doch mit einem gewissen Risiko behaftet sei. Im allgemeinen sollten Dosierungen von 50 mg/kg Körpergewicht und 24 Stunden nicht überschritten werden. Außerdem sollte nicht länger als 5-6 Tage hintereinander EDTA verabreicht werden. Bei einer längerdauernden Applikation sollten nach dem 6. Tag mindestens 2 Tage Pause eingelegt werden.

Auch Lilis und Fischbein (1976) sind der Ansicht, daß, wenn die therapeutische Dosis von 50 mg/kg und Tag nicht überschritten wird, die Zufuhr weniger als 20 mg/Min beträgt und die Behandlung höchstens 5-7 Tage durchgeführt wird, praktisch keine Nebenwirkungen zu beobachten sind.

Neben der Gefahr einer überhöhten Dosierung sind nach Ansicht aller Autoren als Kontraindikation bereits bestehende Nierenerkrankungen oder sehr rasche Applikation zu berücksichtigen.

Vor dem Beginn einer Langzeitprophylaxe mit Chelatbildnern sind also Nutzen und Gefahren unbedingt abzuwägen und ist vor einer allzu freizügigen Indikationsstellung im Hinblick auf die erwiesenen toxischen Nebenwirkungen abzuraten.

Zu Beginn des Einsatzes von Calcium-EDTA in die Therapie der Bleivergiftung wurden schwere Tubulusnekrosen beobachtet. In einigen Fällen (Vogt und Cottier (1957), Moeschlin (1957), Moeschlin und Schlechtermann (1952), Weinig und Schwerd (1958)) führten diese toxischen Nephrosen zum Tode der Patienten.

Diese Schädigungsmöglichkeit wurde durch Tierversuche (Weber (1970), Melvin et al. (1966), Reubers und Mitarbeiter (1967)) erhärtet (siehe Kapitel III, Abschnitt b). Auffallend bei den Berichten über die letal verlaufenen toxischen Nephrosen ist die relativ lange und hohe, jedoch damals übliche Dosierung.

So berichtet Moeschlin (1957, Kapitel I,f) zum Beispiel über das Auftreten einer nekrotisierenden Nephrose bei einem 60jährigen Arbeiter mit chronischer Bleiintoxikation, der in der damals üblichen Dosierung von 4g Mosatil täglich über 3 Tage hinweg behandelt worden war.

Ein weiterer von Moeschlin erwähnter Patient (1952, Kapitel I,f) mit einem wahrscheinlich zum Tode führenden Nierenschaden durch Blei hatte während sechs Tagen täglich 2g Calcium-EDTA intravenös erhalten.

Diese Erfahrungen werden heute bei den Richtlinien zur Behandlung einer Bleivergiftung mit Calcium-EDTA berücksichtigt.

Als sichere Höchstdosis für Calcium-EDTA beim Menschen wird jetzt eine Gabe von 50 mg/kg Körpergewicht und Tag erachtet. (Chisolm, 1970). Außerdem sollte nicht länger als 5 bis 6 Tage hintereinander EDTA gegeben werden, dann sollte mindestens 2 Tage Pause eingehalten werden (Siehe Kapitel VI,c).

Obwohl das Problem einer sicheren Dosierung und gefahrlosen Applikation der Chelate relativ rasch nach Einführung in die Therapie gelöst wurde, herrschen hinsichtlich des metabolischen Verhaltens der Chelate

und der Pathogenese der Chelattoxizität noch Unklarheiten.

Es wurde allgemein angenommen, daß die Chelate EDTA und DTPA sich im Säugetierorganismus metabolisch inert verhalten, das heißt, nicht abgebaut und unverändert ausgeschieden werden. Diser Annahme lagen Untersuchungen von Foreman und Mitarbeiter (1953, 1960, Kapitel II,b) zugrunde:

Neben einer schnellen Ausscheidung mit dem Urin (95% in den ersten vier Stunden) ergab sich eine viel geringere mit dem Faeces (0,5% in 24 Stunden). Nur 0,1% eines markierten Calcium-EDTA wurden im CO_2 der Atemluft nachgewiesen.

Untersuchungen von Havlicek et al. (1968) mit einer im Vergleich zu der von Foreman und Mitarbeiter verwendeten Methodik empfindlicheren und erweiterten Meßtechnik (Siehe Kapitel II,b) ergaben jedoch einen 7- bis 13fach höheren Wert der CO_2 -Ausscheidung von markierten Chelaten. Auf Grund des relativ hohen Ausmaßes der Veratmung von markierten Chelatbildnern folgerten Havlicek und seine Mitarbeiter, daß EDTA doch zu einem Teil einem metabolischen Abbau unterliegt, wobei im wesentlichen die Acetatgruppen des Chelates betroffen werden.

Das Ausmaß der Metabolisierung hängt dabei weder von der Dosis noch vom cheliertem Metallion, sondern allein von der Art des Liganden ab. Havlicek (1968) und Bohne (1968) konnten nachweisen, daß dieser metabolische Abbau vornehmlich in den Nieren stattfindet, was die biologische Relevanz ihrer Befunde (in Hinblick auf die beobachteten Nephrosen) erhöht. Eine chemische Identifizierung der so entstandenen Metabolite steht jedoch noch aus.

Während also in Bezug auf den Metabolismus der Chelate Fragen offen bleiben, herrscht heute über die Exkretion der Chelatbildner weitgehend Klarheit:

Foreman (1960) und Heller et al. (1964) schlugen an-

fangs als Modell für die renale Exkretion eine Kombination von tubulärer Sekretion und glomerulärer Filtration vor. Neuere Versuchsergebnisse von Ahrens und Aronson (1971), Foreland und Pullmann (1966) und Stacy und Thornborn (1966) machen jedoch klar, daß der Exkretion der Chelate als Ausscheidungsmodus eine dosisunabhängige Filtration zu Grunde liegt. EDTA zeigt damit das gleiche Verhalten wie Inulin, wird also weder sezerniert noch resorbiert. Ein aktiver Sekretionsmechanismus oder kompetitive Hemmung durch tubuläre Blocker liegen nicht vor.

Die EDTA-Clearance ist mit 20 Minuten äußerst rasch und unabhängig vom pH-Wert des Urins, dem Ausmaß der Urinausscheidung und der Chelatdosis (Kapitel II,e). Eine dosisunabhängige Filtration der Chelate und ihrer Metabolite ist jedoch nur bei intakter Nierenfunktion gewährleistet. Ist die Zahl der aktiven Glomerula verringert oder bestehen andere degenerative Veränderungen der Nierenstruktur, so ist die Clearance der Chelate herabgesetzt und die Niere durch erhöhtes Angebot überlastet.

Dies ist für das Verständnis der Chelattoxizität von großer Bedeutung.

Im Verlauf der Arbeit ist die Pathogenese der Chelattoxizität von verschiedenen Seiten her betrachtet worden. Ausgehend von einer morphologisch-histologischen Betrachtung wurden die biochemischen Aspekte sowie der Einfluß der Chelate auf den Mineralhaushalt diskutiert. Für die Toxizität der Chelate hat sich dabei kein einheitliches Gesamtbild herauskristallisiert, sondern ein multifaktorielles Geschehen angeboten. Es ergaben sich drei ätiologische Möglichkeiten, die von einander verschieden sind, sich jedoch nicht widersprechen und durchaus kombiniert werden können:

1. Die Clearance, und damit die Zahl der aktiven Glomerula ist bei hohen EDTA-Dosen herabgesetzt. Dies konnten Bohne und Mitarbeiter (1968) nachweisen und wurde durch histologische Zustandsbilder belegt

(ödematöse Verklumpung der Glomerula, hydropische Degeneration). Das bedeutet jedoch, daß die Niere auf ein erhöhtes Angebot von Schwermetallen, wie es zum Beispiel bei der Dekorporation von Blei der Fall ist, nicht in ausreichendem Maße reagieren kann. Es kommt dann zwar zu einer Mobilisierung des Metalles, nicht jedoch zu einer Ausscheidung. Die Folge ist Überbelastung der Niere und anschließendes Nierenversagen in Form von Urämie. Weinig und Schwerd (1958) sehen hierin die Hauptgefahr und die Ursache der Chelattoxizität.

Interessant ist in diesem Zusammenhang die Beobachtung von Havlicek et al. (1968), daß 1,5% der Chelate metabolisiert werden. Die Metabolisierung ist im Hinblick auf den Dekorporationseffekt der Chelate belanglos, jedoch aus folgenden Gründen von Bedeutung:

Durch den, wenn auch geringen metabolischen Abbau, der, wie gezeigt werden konnte, hauptsächlich in der Niere stattfindet, bleibt EDTA länger im Organismus. Das EDTA, das normalerweise zu 95% unreduziert im 24-Stundenurin erscheint, ist während des Abbaus vermehrt in der Lage sich in der Niere abzulagern, wodurch es zu einer Steigerung des osmotischen Druckes und der Unterbindung von Transportwegen kommen kann. Folge wäre eine hydropische Degeneration (Wasser wird am Eintritt in die Zellen gehindert), wie sie bereits beschrieben wurde. Zudem ist - wie Catsch und Mitarbeiter (1966) feststellen konnten - die LD_{50} der Calciumchelate relativ hoch, so daß der prozentual geringe Abbau der Chelate - absolut betrachtet - hinsichtlich der Toxizität nicht zu vernachlässigen ist.

Von Interesse ist weiterhin, inwieweit die Metaboliten der Chelate selbst toxisch sind. Untersuchungen darüber sind noch im Gang.

2. Zwischen histologischen Zustandsbild und den biochemischen Vorgängen bei der Einwirkung der Chelate besteht ein enger kausaler Zusammenhang.

Schwartz et al. (1970), Doolan et al. (1967), Mauns-

bach et al. (1962) und Wilmer (1964) zeigten, daß EDTA durch Pinocytose Einfluß auf wichtige lysosomale Enzyme nimmt. Die dabei entstehenden Vakuolen sind lysosomaler Natur und in der Zahl von der Dosis der Chelate und ihrer Einwirkzeit abhängig (sogeannter vakuolärer Apparat).

Bestätigt wurde der Zusammenhang zwischen den nach Chelatintoxikation auftretenden Vakuolen, die das Bild der hydropischen Degeneration hervorrufen, und den sich anschließenden biochemischen Veränderungen durch differentielle Zentrifugation von Nierenkortex von Ratten, die vorher markiertes Chelat erhalten hatten. Ein Vergleich der Dichtegradienten ergab dabei, daß die Chelate die gleiche Dichtezone, und damit den gleichen Teilchenraum wie bestimmte lysosomale Enzyme (saure Phosphatase, Arylsulfatase, Ribonuklease) aufweisen. Die Einwirkung der Chelate auf Enzyme besteht hauptsächlich in einer Aktivitätsreduzierung der Enzyme und einem Anstieg der Chelate im Serum. Für ihre Wirkungsweise kommen dabei zwei Möglichkeiten in Betracht:

- a) Der hohe Serumspiegel organspezifischer Enzyme wie der Glutamat-Dehydrogenase oder der Sorbit-Dehydrogenase spricht für einen direkten Einfluß der Chelate auf die Zellen.
- b) Versuche mit Cu-EDTA (Pontremoli et al., 1973) und Mn-EDTA (Fiedler, 1969) zeigen, daß es durch unspezifischen Entzug von Metallionen zur Hemmung von Metallenzymen kommt. Ob dabei das Metall in situ gebunden wird und es so langsam zu Konformationsänderungen der Enzymproteine kommt, oder ob es durch sofortigen Metallentzug zur Denaturierung des Enzyms kommt, ist noch nicht geklärt.

Der Einfluß der Chelate beschränkt sich nicht nur auf nierenspezifische Enzyme, sondern betrifft auch Enzyme anderer Organe wie Leber und Placenta.

Es muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß die Pathogenese der Chelattoxizität im Sinne des vakuolären

Apparates beziehungsweise der osmotischen Nephrose einige Fragen offenläßt und deshalb von einigen Autoren wie Hoene (1967) und Bohne et al. (1968) abgelehnt wird.

So spricht die Tatsache, daß sich die Chelate Ca-EDTA, Ca-DTPA und Zn-DTPA bezüglich ihres Molekulargewichtes und Dichtegradienten zwar nur unwesentlich unterscheiden, jedoch eine stark unterschiedliche Toxizität aufweisen, gegen die zur Diskussion gestellte Vorstellung. Ferner ist darauf hinzuweisen, daß die durch Saccharose hervorgerufenen Vakuolen, mit denen die Vakuolen bei Chelattoxizität verglichen werden, erst ab sehr hohen Dosen provoziert werden können, während bei den Chelaten der vakuoläre Apparat bereits in niedrigsten Dosisbereichen auftritt.

Dennoch erlauben die Ergebnisse von Schwartz (1970), Doolan et al. (1967) und Wilmer (1944) eine Verknüpfung von morphologischen und biochemischen Vorgängen bei der Chelattoxizität und bieten so einen interessanten und vertretbaren Schritt zur Aufklärung der Chelattoxizität

3. Die essentiellen Spurenelemente nehmen eine Schlüsselstellung in der Problematik der Chelattoxizität ein: Da die Stabilität der Ca-Chelate wesentlich niedriger ist als die der Chelate vieler endogener Spurenelemente, ist die Annahme plausibel, daß das chelierte Ca^{++} -Ion gegen endogene essentielle Metallionen ausgetauscht wird. Dies könnte seinerseits zu einer Beeinträchtigung der Funktion von metallkontrollierten Enzymen und zu einer dadurch bedingten Ansammlung von Metaboliten in den betroffenen Zellen führen.

Von Foreman et al. (1960) wurde in diesem Zusammenhang an eine Inaktivierung der Zn-haltigen Carbonanhydratase oder der durch Eisen kontrollierten Bernsteinsäuredehydrogenase gedacht.

Zugunsten dieser Vorstellung lassen sich einige experimentelle Befunde anführen. Candura et al. (1960), Millar et al. (1954), Perry und Perry (1959), Tarui

(1960) und Teisinger (1958) stellten fest, daß es unter Einwirkung von Ca-EDTA zu einer deutlich erhöhten Ausscheidung von Zink mit dem Urin kommt. Nigrovic (1964) zeigte, daß die Ca-Chelate der EDTA und DTPA in vivo zu einer ausgeprägten Inaktivierung der Zn-haltigen alkalischen Phosphatase der Nierenrinde führen, wobei die größere Wirksamkeit der DTPA in guter Übereinstimmung mit der unterschiedlichen Toxizität beider Liganden steht.

Es kann angenommen werden, daß die Metallchelate, die eine höhere Stabilität als die Ca-Chelate besitzen, auch eine entsprechend reduzierte Toxizität aufweisen. Die Toxizität der Chelate ist also umgekehrt proportional zum Wert ihrer Stabilitätskonstanten.

Catsch (1964) und Havlicek (1967) konnten dies für die Zn- und Co-Chelate, Nadolny (1971) für die Mn-Chelate der EDTA und DTPA auch tatsächlich nachweisen. Untersuchungen dieser Autoren über die Abhängigkeit der Ausscheidung essentieller Spurenelemente von der Chelatdosis ergaben für alle untersuchten Chelate und Spurenelemente ein klares Ergebnis:

Die Ausscheidung der Spurenelemente ist dosisabhängig. Proportional zur wachsenden Chelatdosis nimmt die Ausscheidung der Spurenelemente zu, wobei bei gleicher Molarität DTPA wirksamer ist als EDTA

Von großer Wichtigkeit für das Verständnis der Pathogenese der Chelattoxizität ist die Erkenntnis, daß die Chelate einen direkten Einfluß auf die Spurenelemente ausüben. Dieser Einfluß besteht in der Mobilisation von endogenen Metallen, wie Havlicek (1967) und Nadolny (1971) aus ihren Versuchen folgern konnten. Die Mobilisation von endogenen Spurenelementen ist nach Rosenblatt et al. (1978) grundsätzlich auf zwei Arten möglich:

a) Extrazelluläres EDTA ruft Änderungen an der Zellmembran hervor, die entweder zu einem verstärktem Ausfluß von endogenen Spurenelementen oder zu einer ver-

stärkten Abdichtung der Zellmembran und damit zu einer Blockierung des Transportweges führen. Die Folge wäre eine beschleunigte Ausscheidung von vermehrt extrazellulär angehäuften Spurenelementen durch die Chelate.

b) Durch starke Chelierung von extrazellulären Metallionen kommt es zu einer Störung des Gleichgewichtes zwischen extrazellulären und intrazellulären Spurenelementen und damit sekundär zu einer Verarmung des endogenen Metallpools.

Nach den Ergebnissen von Rosenblatt et al. (1978), Nadolny (1971) und Havlicek (1967) zu urteilen, ist wohl die zweite Möglichkeit als die zutreffendere zu bezeichnen.

Es sei in diesem Zusammenhang nochmals daran erinnert, daß dann die Stabilitätskonstanten der jeweiligen Chelate in engem Bezug zu der Mobilisation von endogen Metallen stehen. Der reziproke Wert der Stabilitätskonstante kann also als Korrelat für die Toxizität der jeweiligen Chelate dienen.

Es ist zu vermerken, daß die Relevanz der Befunde von Havlicek (1967), Nadolny (1971) und Rosenblatt et al. (1978) nicht unumstritten sind.

Obwohl Havlicek bei seinen Untersuchungen eine echte Mobilisierung von endogenem Zink durch Chelatbildner nachweisen konnte, erscheint ihre pathogenetische Bedeutung fraglich, zumindest was die einfache Gleichsetzung von Toxizität und allgemeiner Verarmung des Organismus an Zink betrifft. Für diese Behauptung ergeben sich insofern gewisse Komplikationen, als die durch die Chelatbildner induzierte Zink-Defizienz des Organismus nur kurzfristig ist und durch erhöhte Retention des enteral resorbierten Zink kompensiert werden kann.

Außerdem zeigt DTPA bei der Mobilisierung von endogenem Zink eine hundertmal höhere Effektivität als EDTA; was die chronische Toxizität betrifft, weist jedoch DTPA eine nur zweimal höhere Toxizität auf (Catsch, 1964).

Bei all dem darf jedoch nicht außer Acht gelassen werden, daß nicht nur die allgemeine Verarmung des Organismus an Spurenelementen pathogenetisch wirksam werden kann, sondern - wie gezeigt - die bei der Mobilisation entstandenen Metabolite in kausalem Zusammenhang mit der Chelattoxizität stehen. Außerdem konnte Friedel (1967) nachweisen, daß protrahierte Applikation von Ca-Chelaten durchaus zu einer längerzeitigen Verarmung des Organismus an Spurenelementen führt.

Vor Beginn einer Langzeittherapie mit Chelatbildnern sind also Nutzen und Gefahren unbedingt abzuwägen und ist vor einer allzu freizügigen Indikationsstellung im Hinblick auf die unerwünschten toxischen Nebenwirkungen abzuraten.

Dies alles spricht natürlich nicht gegen eine gezielt und vernünftig durchgeführte Chelattherapie, deren oberster Grundsatz ist:

N I L N O C E R E !

VIII Z U S A M M E N F A S S U N G

Die vorliegende Arbeit nimmt zur Toxizität der Chelate EDTA und DTPA Stellung. An Hand der medizinischen Literatur der vergangenen zwei Jahrzehnte wurde vor allem ihre Giftwirkung unter besonderer Berücksichtigung von Nierenschäden einer kritischen Betrachtung unterzogen.

Ausgehend von den in der Literatur beschriebenen Todesfällen nach Chelattherapie wurde das metabolische und exkretorische Verhalten der oben genannten Chelatbildner untersucht.

Die Exkretion der Chelate beruht auf einer dosisabhängigen Filtration, ähnlich der des Inulin, und ist mit einer Halbwertszeit von 20 Minuten äußerst rasch. Zu einem gewissen Prozentsatz unterliegen die Chelate einem metabolischen Abbau. Die Bedeutung dieser Befunde hinsichtlich der Chelattoxizität werden diskutiert.

Es wurde ferner versucht eine Erklärung für die histopathologischen Zustandsbilder der Nieren nach Chelatintoxikation zu finden und in diesem Zusammenhang auf die Existenz des "vakuolären Apparates" hingewiesen, der eine Verknüpfung von morphologischen und biochemischen Vorgängen gestattet. Das biochemische Verhalten von Enzymen unter Einfluß der Chelate EDTA und DTPA wurde daraufhin genauer betrachtet. Für eine Reihe von Enzymen konnten dosisabhängige Aktivitätsreduzierungen festgestellt werden. Es wurde diskutiert, welche Relevanz diese Aktivitätsreduzierungen für die Chelattoxizität besitzen.

Viele der betroffenen Enzyme benötigen als Cofaktoren Spurenelemente. Für die Pathogenese der Chelattoxizität wurde die Möglichkeit der Beeinflussung des Mineralhaushaltes durch Chelate erörtert. Besonderes

Augenmerk wurde dabei auf die Spurenelemente Fe, Cu, Zn und Mn gelegt. Die direkte Einwirkung der Chelate EDTA und DTPA auf diese Metallionen, das heißt die Mobilisation des endogenen Pools dieser Spurenelemente, konnte nachgewiesen werden und die Bedeutung dieses Befundes für die Chelattoxizität wurde zur Diskussion gestellt.

Abschließend wurde an Hand des Bleiprovokationstestes stellvertretend für alle anderen Indikationsstellungen die Problematik einer vertretbaren therapeutischen Dosierung besprochen.

Auf Gefahren bei der Langzeittherapie mit den Chelaten EDTA und DTPA wird aufmerksam gemacht.

IX L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

Agus S.G., Cox R.P., Griffin M.J.

Inhibition of alkaline phosphatase by cysteine and its analogues, *Biochim. Biophys. Acta* (Amsterdam) 118, 363-70 (1966)

Ahrens A., Aronson A.

The mechanism of renal transport and excretion of EDTA with interspecies comparison, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* (N.Y.) 18, 1-9 (1971)

Ballou J.E., Thompson R.C.

Metabolism of zinc-65 in the rat, *Health Physics* (N.Y.) 6, 6-18 (1961)

Bauer R.O., Rullo F.R., Spooner C., Woodman E.

Acute and subacute toxicity of EDTA acid salts, *Fed. Proc.* (N.Y.) 11, 321 (1952)

Beilstein F.K.

Handbuch der organischen Chemie, Band 4/2, 4. Ergänzungswerk, 4. Auflage, S. 1177-89, Springer-Verl.

Beyer K.H., Russo H.F., Tillson E.K., Millar A.K.

Benemid - its renal affinity and its elimination, *Am. J. Physiol* (N.Y.) 166, 625 (1951)

Bohne F., Hartmuth-Hoene A.E., Nigrovic V.

Einfluß von DTPA auf die enterale Resorption von Zink, *Strahlentherapie* (München) 134, 293-5 (1967)

Bohne F., Hartmuth-Hoene A.E., Kürzinger K., Havlicek F.

Der physiologische Verdünnungsraum der ÄDTA und DTPA, *Strahlentherapie* (Karlsruhe) 136, 609-16 (1968)

Buntrock P., Friedel W.

Das Verhalten einiger Serumparameter der Ratte nach Behandlung mit $\text{CaNa}_2\text{-EDTA}$ im subchronischen Toxizitätsversuch, *Z. Gesamte Inn. Med.* (Leipzig) 27, 267 (1972)

Candura M., Villa F., Eszechidi S.

Lavaro Umano (Florenz) 12, 402 (1960)

Catsch A.

Zur Toxikologie der DTPA, *Nauyn Schmiedeberg Arch. Exp. Path. Pharm.* (Berlin) 246, 316-29 (1964)

Catsch A., Du Khoung Le.

Das Verhalten von Radiozink-Chelaten im Säugetierorganismus, *Strahlentherapie* 130, 557-66 (1966)

Chabarek S., Mortell A.E.

Organic Sequestering Agents, pp 238-9 Wiley N.Y.
(1959)

Chenoweth M.B.

Chelation as mechanism of pharmacological action,
Pharmacol Rev (Baltimore) 8, 57 (1956)

Chenoweth M.B.

Clinical use of metal binding drugs, Clin Pharmacol
Ther (St. Louis) 9, 365-87 (1968)

Chisolm J.

Clin Toxicol (N.Y.) 3(4), 527-540 (1970)

Clark B., Porteous J.W.

The metal ion activation of the alkaline betaglycero-
phosphatase of rabbit small intestine, Biochem J
(London) 95, 475-82 (1965)

Conyers R., Birkett D., Neale F.C., Posen S., Brudnell Y.

The action of EDTA on human alkaline phosphatase,
Biochim Biophys Acta (Amsterdam) 139, 363-71 (1967)

Cottier M., Vogt W.

Nekrotisierende Nephrose nach Behandlung einer sub-
akutchronischen Bleivergiftung mit Versenat in hohen
Dosen, Schweiz Med Wschr (Basel) 85, 665-7 (1957)

Crenoma T., Singer T.P.

Mechanism of the reversible inhibition of zinc-flavo-
proteins by chelates, Biochim Biophys Acta (Amsterdam)
57, 412-15 (1962)

Di Scala V., Maurtner W., Cohen J., Churg J., Yunis S.

Tubular alternatives produced by osmotic diuresis
with mannitol, Ann Int Med (Philadelphia) 63, 767-75
(1965)

De Duve C., Wattiaux R.

Functions of lysosomes, Ann Rev Physiol (Stanford)
28, 435-92 (1966)

Dooclan P.D., Sorell L., Schwartz S.L., Hayes J.R.,

An evaluation of the nephrotoxicity of EDTA and DTPA
in the rat, Toxicol Appl Pharmacol (N.Y.) 10, 481-500
(1967)

- Dudley H.C., Ritchie A.C., Shilling A., Baker W.H.
Pathologic changes associated with the use of $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ in treatment of hypercalcemia, *New Engl J Med* (Boston) 252, 331-7 (1955)
- Duric D., Bojovic V., Millic S.
Urinary excretion of zinc in workers exposed to lead treated with $\text{CaNa}_2\text{-EDTA}$, *Arh Hig Rada Toksikol* (Zagreb) 20 Suppl, 123-7 (1969)
- Fiedler H.
Untersuchungen über die Toxizität des $\text{CaNa}_2\text{-EDTA}$, *Arch Toxikol* (Berlin) 25, 140-49 (1969)
- Figuerova W.G., Adams W.S., Bassett S.H., Rosove L.
Effect of disodium calcium versenate on iron excretion, *Am J Med* (N.Y.) 17, 101 (1954)
- Foreman H., Vier M., Magee M.
Metabolism of C^{14} labeled EDTA in the rat, *J Biol Chem* (Baltimore) 203, 1045-53 (1953)
- Foreman H.
The pharmacology of some useful chelating agents, *Metal Binding in Medicine* (7. Ausgabe) Ss. 82-94 Philadelphia (1960)
- Forland M., Pullmann Th.
The renal excretion of EDTA in the dog, *J Pharmacol Exp Ther* (Baltimore) 153, 142-7 (1966)
- Friedel W., Luz B., Rüster D., Freitag M., Schulz F.
Zur Wirkung der ÄDTA auf den Eisenstoffwechsel, *Dt. Gesundh.* (Berlin) 22, 2459-65 (1967)
- Gilbert I.G.F., Taler D.M.
Behavior of zinc and radio-zinc, *Biochim. Biophys. Acta* (Amsterdam) 21, 545-51 (1956)
- Havlicek F.
Metabolismus und Toxizität therapeutischer Chelatbildner, *Strahlentherapie* (Karlsruhe) 134, 269-305 (1967)
- Havlicek F., Böhne F., Zorn H.
Exkretion und metabolischer Abbau von ÄDTA und DTPA, *Strahlentherapie* (Karlsruhe) 136, 604-8 (1968)
- Heller J., Vostal J.
Renal excretion of EDTA - A new tubular secretory mechanism, *Experientia* (Basel) 20, 99-101 (1964)

Hoene A.-E.

Vergleichende Untersuchungen über die Ausscheidung von ÄDTA und DTPA im Urin der Ratte, Strahlentherapie (Karlsruhe) 134, 110-21 (1967)

Holland J.F., Danielson A.

Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine (N.Y.) 84, 359 (1955)

Holley R.W., Kieran J.A.

Proceedings of the National Academy of Science (Washington) 71, 2942-5 (1974)

Hösli P.

The therapy of scleroderma with the disodium salt of EDTA, a contribution to the toxicity of versenate, Arzneimittelforschung (Aulendorf) 10, 177-81 (1960)

Ippen H.

Index Pharmacorum, Thieme (Stuttgart) (1968)

Ishmael J., Gopinath C., Mc Howell J.

Studies with copper-calcium-EDTA, J. Comp. Pathol. (Liverpool) 81, 279-290 (1971)

Krienke J.

Deutsches Ärzteblatt, S.1437 (1967)

Kuschinsky E.

Taschenbuch der modernen Arzneibehandlung, Thieme (Stuttgart) (1975)

Lilis R., Fischbein A.

Chelationtherapy in workers exposed to lead; a critical review, J.A.M.A. (Chicago) 235(26), 2823-4 (1976)

Mathies J.C., Wallach D.P.

Some properties of an alkaline phosphatase from the rat adipose tissue, Canad. J. Biochem. (Ottawa) 42, 1445-57 (1964)

Maunsbach A.B., Madden S.C., Latta H.

Light and electron microscopic changes in proximal tubulus of rats after administration of glucose, mannitol, sucrose or iextran, Lab. Invest. (N.Y.) 11, 421-32 (1962)

Mazur A.

J. Biol. Chem. (Baltimore) 255, 595 (1966)

Mc Gilvery J.R.W.

Fructose-1,6-diphosphatase and its role in gluconeogenesis, American Institute of Biological Sciences (N.Y.) 3-13 (1964)

Melvin D., Reuber A., Cecil W.

CaNa₂-EDTA nephrosis in inbred rats, Arch. Environ. Health (Chicago) 13, 554-57 (1966)

Metzler L.E.

The long term use, side effects of EDTA, Am. J. Med. Sciences (N.Y.) 242, 11-17 (1961)

Millar M.J., Fischer M., Mawson C.A., Elcoate P.V.

Influence of EDTA on excretion of zinc by the rat, Nature (London) 174, 881 (1954)

Moeschlin S., Schlechtermann L.

Vergleichende Untersuchungen über den therapeutischen Effekt von BAL oder Natriumcitrat bei der experimentellen Bleivergiftung, Schweiz. Med. Wschr. 82, 1164-5 (1952)

Moeschlin S.

Zur Klinik und Therapie der Bleivergiftung mit einem Bericht über eine tödliche toxische Nephrose durch Ca-EDTA, Schweiz. Med. Wschr. (Basel) 87, 1091-96 (1957)

Mokrasch L.C., Mc Gilvery R.W.

Purification and properties of fructose-1,6-diphosphatase, J. Biol. Chem. (N.Y.) 221, 909-17 (1956)

Morten R.K.

Biochem. J. (N.Y.) 60, 573 (1955)

Nadolny W.

Metabolismus und Toxizität therapeutischer Chelatbildner, Strahlentherapie (München) 141, 100-105 (1971)

Neilands J.B.

Vorsicht mit Chelaten bei Bleivergiftung, Ärztliche Praxis (München) 37, 1855 (1977)

Nigrovic V.

Naunyn Schmiedeberg Arch. exp. Path. Pharmac. (Berlin) 249, 206 (1964)

Perry H.M., Perry E.F.

Normal concentrations of some trace metals in human urine: changes produced by EDTA, J. Clin. Invest. (N.Y.) 38, 1452-63 (1959)

Pleskova A., Hladka A., Ternovec T.

Toxizität und Metabolismus der ÄDTA, der DTPA und Mezo-2,3-Diaminbutantetraessigsäure, Bratisl. Lek. Listy (Bratislava) 46, 540-47 (1967)

Pontremoli S., Rosenberg J.S., Tashima Y., Horecker B.

Activation of rabbit kidney fructosediphosphatase by Mg-EDTA, Mn-EDTA and Co-EDTA complexes, Arch. Biochem. Biophys. (N.Y.) 154, 283-91 (1973)

Reinhold R., Holzapfel G.

Untersuchungen über die Lsngzeitprophylaxe mit $\text{CaNa}_2\text{-EDTA}$ bei bleiexponierten Arbeitern, Int. Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg. (Berlin) 24, 116-120 (1967)

Reuber D.

Severe nephrosis in older male rats given $\text{CaNa}_2\text{-EDTA}$, Arch. Environ. Health (Chicago) 15, 141-46 (1967)

Rieders F.

Effects of intravenous disodium-calcium-EDTA infusion on urinary excretion of Pb, Fe, Cu and Zn in man, Federation proceedings (Baltimore) 14, 382 (1955)

Roche J., Thoai N.V.

Advanced Encymology (N.Y.) 10, 83 (1950)

Rosenblatt D.E., Aronson A.L.

Ca-EDTA Toxicity: time and dose-response studies on intestinal DNA-synthesis in the rat, Exper. Molec. Pathol. (N.Y.) 28, 202-14 (1978)

Rotta C., Parigi E.A.

Prevenzione des saturnismo mediante di calcio per via orale, Med. Lav. (Mailand) 52, 769 (1961)

Schwartz S.L., Jude R., Hayes R., Johnson C.B., Doolan D.

Studies of the nephrotoxicity of EDTA, Biochem. Pharmacol (N.Y.) 15, 377-89 (1966)

Schwartz S.L., Johnson C.B., Doolan P.D.

Subcellular localisation of EDTA in the proximal tubular cell of rat kidney, Biochem. Pharmacol. (N.Y.) 16, 2413-419 (1967)

Schwartz S.L., Johnson C.B., Doolan P.D.

Study of the mechanism of renal vacuologensis induced in the rat by EDTA, Mol. Pharmacol. (N.Y.) 6, 54-60 (1970)

Stacy B.D., Thornborn G.D.

Chromium⁵¹-EDTA for estimation of glomerular filtration rate, Science (Washington) 152, 1076-77 (1966)

Sullivan T.J.

The effects of metallic edetates on growth and blood formations of the rat, Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. (N.Y.) 124, 225-36 (1960)

Sutton H.H., Bowman B.H.

Proc. Soc. Int. Congres of Human Genetics (Rom), S. 712 (1964)

Svoczynski J., Kubica J., Buczkowski M.

Med. Pracy (Belgrad) 19, 64 (1964)

Tarui S.

Med. J. Osaka Univ. (Osaka) 10, 449 (1960)

Taylor D.M.

Retention of zinc⁶⁵ in the bones of rats, Nature (London) 189, 932-3 (1961)

Teisinger J., Fiserova-Bergerova V.

Über den Einfluß des zur Therapie der Bleivergiftung verwendeten Kalzium-Dinatriumsalzes der ÄDTA auf den Eisen und Kupferspiegel im Blut und Urin, Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg. (Berlin) 16, 478-89 (1958)

Teisinger J.

Biochemical responses to provocative chelation by edetate disodium calcium, Arch. Environ. Health (Chicago) 23, 280-3 (1971)

Unsel'd W.D.

Ein neuer Test zum Nachweis von Bleiablagerungen im Körper, Klin. Wschr. (Berlin) 36, 328-30 (1958)

Vogt W., Cottier M.

Nekrotisierende Nephrose nach Behandlung einer subakutchronischen Bleivergiftung mit Versenat in hohen Dosen, Schweiz. Med. Wschr. (Basel) 85, 665-7 (1957)

Wallach D.P., Mathies J.C.

Some properties of an alkaline phosphatase from the rat adipose tissue, Canad. J. Biochem. (Ottawa) 42, 1445-57 (1964)

Weber K.M.

Die histioautoradiographische Lokalisation von EDTA in Organen der Ratte, Strahlentherapie (Karlsruhe) 137, 703-11 (1969)

Weber K.M.

Über die hydropische Degeneration in der Ratteniere nach Verabfolgung der Chelatbildner $\text{CaNa}_2\text{-EDTA}$ und $\text{CaNa}_3\text{-DTPA}$, Vir. Arch., Abteilung B Zellpathologie (Berlin) 5, 39-59 (1970)

Weinig E., Schwerd W.

Nil Nocere. Gefahren bei der Behandlung der Blei-intoxikation mit Kalziumversenat, München. Med. Wschr. (München) 46, 1788-9 (1958)

Wilmer H.A.

The mechanism of sucrose damage of the kidney, Am. J. Physiol. (Bethesda) 141, 431-8 (1944)

Wirth A., Hecht J., Gloxhuber S.

Allgemeine Toxikologie, Thieme (Stuttgart) S.61 (1971)

Wöhler F., Heilmeyer L.

Modern problems in the pathogenesis of hemochromatosis, Fol. Haemat. (Frankfurt) 8, 291-6 (1963)

Wöhler F.

The treatment of haematochromatosis with desferrioxamine, Acta Haemat. (Basel) 30, 65-87 (1963)

Lebenslauf

Ich, Karl-Georg Kaiser, wurde als erstes Kind des Bäckermeisters Hermann Kaiser und seiner Ehefrau Theresa, geb. Mosler, am 1. 12. 1953 in Bischofsgrün geboren.

Mein Glaubensbekenntnis ist luth. evangelisch.

Von 1960-1963 besuchte ich die Volksschule Bischofsgrün, wechselte 1963 auf die Volksschule Windsbach über und trat dort 1964 in das humanistische Johann-Sebastian-Bach-Gymnasium ein.

1968 verbrachte ich ein dreimonatiges Sprachstudium in England. Von August 1970 bis Juli 1971 besuchte ich die High-School (senior class) in Madison, South Dakota, USA.

Im Juni 1973 legte ich mein Abitur in Windsbach ab.

Im Oktober des gleichen Jahres immatrikulierte ich mich für den Fachbereich Zahnmedizin an der Universität Erlangen. Dort legte ich im Juli 1979 die zahnärztliche Prüfung ab.

Von August 1979 bis Oktober 1979 war ich als Ausbildungsassistent bei einem niedergelassenen Zahnarzt im Raum Kulmbach tätig.

Im Oktober 79 wurde ich zur Bundeswehr nach Roding, Kreis Cham, eingezogen.

Am 1. Dezember 1979 heiratete ich meine Frau Gabriele Beate, geb Geyer, und bezog einen festen Wohnsitz in Bayreuth.

Zur Zeit bin ich als Stabsarzt bei der Bundeswehr in Bayreuth tätig.

Kaiser

